



Universidade de Aveiro Departamento de Química
2020

**Marta Filipa Dias
Almeida**

**Estratégias de estabilização dos subprodutos da
atividade cervejeira com vista à sua valorização em
futuras aplicações**



**Marta Filipa Dias
Almeida**

**Estratégias de estabilização dos subprodutos da
atividade cervejeira com vista à sua valorização em
futuras aplicações**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia, ramo de Biotecnologia Industrial e Ambiental, realizada sob a orientação científica da Doutora Elisabete Verde Martins Coelho, Investigadora do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e sob a supervisão empresarial do Engenheiro Nicolas Billard, Mestre Cervejeiro da empresa Essência D'Alma, Lda.

o júri

presidente

Professor Doutor Jorge Manuel Alexandre Saraiva
Professor Associado do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

arguente

Professora Doutora Dulcineia Maria de Sousa Ferreira Wessel
Professora Coordenadora na Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viseu

orientador

Doutora Elisabete Verde Martins Coelho
Investigadora do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

agradecimentos

Agradeço aos meus orientadores Doutora Elisabete Coelho, Professor Doutor Manuel António Coimbra e Eng.^o Nicolas Billard por todo o apoio, inspiração e acompanhamento no desenvolvimento deste projeto.

À empresa Essência D'Alma Lda., produtora da cerveja artesanal Vadia, e colegas pelo acolhimento, integração, espírito e pela partilha de conhecimentos, e preocupações.

Por último, agradeço à minha família, colegas e amigos que através da sua paciência e ensinamentos deram-me apoio incondicional.

palavras-chave

Indústria cervejeira, subprodutos cervejeiros, dreche, levedura excedentária, lúpulo residual, estabilização

resumo

Atualmente existe uma elevada procura de cervejas diferentes das habituais, surgindo um novo mercado de cervejas artesanais produzidas por microcervejeiras. O estágio curricular no âmbito desta dissertação de mestrado foi realizado na empresa Essência D'Alma, uma microcervejeira sediada em Ossela, detentora de uma das principais marcas de cerveja artesanal, a Cerveja Vadia. A recente consciencialização do desenvolvimento sustentável e a incorporação da política de economia circular, levou a um interesse científico, ambiental e económico na reutilização e consequente valorização dos subprodutos cervejeiros.

A empresa produz essencialmente três subprodutos fundamentais: a dreche, a levedura excedentária e o lúpulo residual/usado. Mais especificamente, por cada hL de cerveja são produzidos cerca de 28 kg de dreche, 6,4 L de lúpulo residual/ *hot trub* e 1,7 L de leveduras excedentárias. A dreche é rica em fibras e proteínas, na composição do lúpulo residual destacam-se os óleos essenciais, a levedura excedentária apresenta na sua parede celular β -glucanas e manoproteínas e atendendo à composição nestas moléculas os subprodutos têm potencial de valorização económica.

A valorização dos subprodutos passa por um tratamento de estabilização de forma a reduzir a atividade da água. Dentro das alternativas sustentáveis, vários métodos foram propostos para prolongar o tempo de armazenamento destes subprodutos, o método mais utilizado é a secagem, por isso foram testados dois métodos de secagem para a dreche: secagem em cima do pasteurizador e secagem ao ar livre, ambas elas passaram por um processo de pré-remoção de água utilizando uma prensa. A prensagem removeu a fração líquida da dreche, até 66 % de humidade, sendo uma técnica eficiente, recolhendo-se 9,52 L de licor de dreche por cada hL de cerveja. O licor da dreche apresentou um pH de 6,00 e um teor de sólidos solúveis totais de 6,3 °Brix, na sua redução a melaço apresentou uma diminuição do pH (5,36) e um aumento dos sólidos solúveis totais para aproximadamente 50 °Brix, este processo permite a sua utilização em várias aplicações como as rações animais. A secagem em cima do pasteurizador reduziu o teor de humidade da dreche para 12 % após duas semanas (14 dias). A secagem ao sol e ar livre da dreche mostrou-se ser bastante eficaz reduzindo a humidade para cerca de 17 % após 4 dias. Aliado à secagem da dreche foi feita a adição do *hot trub*, para avaliar o seu potencial como conservante devido à presença de compostos terpénicos, no entanto na percentagem utilizada (50 %) não se verificou uma melhoria na conservação da dreche durante o processo de secagem. No caso da levedura excedentária testou-se a sedimentação, prensagem, secagem no forno e ao ar livre, sendo que ao final de 4 dias de secagem ao ar livre a humidade foi reduzida até cerca de 24 %.

Com a estabilização dos subprodutos cervejeiros através da secagem em dois passos, a prensagem seguida de secagem ao sol, é possível a sua valorização para vários mercados, tornando-se viável a transformação em compostos de valor acrescentado ou para venda direta a empresas para incorporação em alimentos ou em formulações de alimentação animal.

keywords

Brewing industry, brewing by-products, brewer's spent grain, brewer's spent yeast, spent hops, stabilization.

abstract

Nowadays, there is a high demand for beers different from the traditional ones, emerging a new market for craft beers produced by microbreweries. The curricular internship within the scope of this master's thesis was carried out at the company Essência D'Alma, a microbrewery company localized in Ossela, owner of one of the main craft beer brands, Cerveja Vadia. The recent awareness of sustainable development and the incorporation of the circular economy policy, has led to a scientific, environmental and economic interest in the reuse and consequent valorization of brewing by-products.

The company essentially produces three fundamental by-products: brewer's spent grain, brewer's spent yeast, spent hops. More specifically, for each hL of beer about 28 kg of spent grains, 6.4 L of spent hops / *hot trub* and 1.7 L of spent yeasts are produced. The brewer's spent grain is rich in arabinoxylans and proteins, the residual hops contains essential oils, the brewer's spent yeast has β -glucans and mannoproteins in their cell wall, taking in account the composition of the by-products on these molecules they have the potential for economic valorization.

The valorization of by-products undergoes a stabilization treatment in order to reduce water activity. Within sustainable alternatives, several methods have been proposed to prolong the storage time of these by-products, the most used method is drying, two drying methods for the brewer's spent grain were tested: drying on top of the pasteurizer and drying in the open air, in both there was a previous pre-water removal process using a press. Pressing removed the liquid fraction from the brewer's spent grain, on average, up to 66 % moisture, being an efficient technique, collecting 9.52 L BSG liquor for each hL of beer. The BSG liquor had a pH of 6.00 and total soluble solids content of 6.3 °Brix, its reduction to molass decrease the pH (5.36) and increase the total soluble solids content to approximately 50 °Brix, this process makes it suitable for several applications such as animal feed, as example. Drying on top of the pasteurizer reduced the brewer's spent grain moisture content to 12 % after two weeks (14 days). Drying in the sun and in the open air of the brewer's spent grain reduced its moisture content to 17 % after 4 days. In addition to the brewer's spent grain drying, the *hot trub* was added to evaluate if it can works as a preservative due to the presence of terpenic compounds present in this hops by-product, however in the percentage used (50 %) there was no improvement in preservation BSG during the drying process. In the case of brewer's spent yeast, sedimentation, pressing, drying in the oven and in the open air were tested, and after 4 days of drying in the open air, the moisture was reduced to 24 %.

With the stabilization of brewing by-products through drying in two steps pressing plus sun drying, it is possible to value them in several markets, making them viable to transform into value-added compounds or for direct sale to companies for incorporation into foods or animal feed formulations.

Índice

1	Introdução	1
1.1	Contextualização da dissertação.....	1
1.2	Produção de cerveja.....	2
1.2.1	Matérias-primas	2
1.2.1.1	Água.....	2
1.2.1.2	Malte de cevada	2
1.2.1.3	Lúpulo.....	3
1.2.1.4	Levedura	4
1.2.2	Processo de Produção	6
1.3	Formação de subprodutos da indústria cervejeira	9
1.3.1	Formação de dreche.....	9
1.3.2	Formação do lúpulo usado/ <i>hot trub</i>	10
1.3.3	Formação da levedura excedentária.....	12
1.3.4	Formação de lamas de diatomáceas	14
1.4	Composição química dos subprodutos da indústria cervejeira	14
1.4.1	Dreche	14
1.4.2	Levedura excedentária.....	17
1.4.3	Lúpulo usado/ <i>hot trub</i>	19
1.5	Estabilização dos subprodutos da indústria cervejeira	20
1.5.1	Atividade de água	21
1.5.2	Alterações microbiológicas, químicas e físicas	22
1.5.3	Métodos de estabilização.....	24
1.5.3.1	Tratamentos de pré-secagem.....	25
1.5.3.2	Secagem Natural	26
1.5.3.3	Ensilagem	26
1.5.3.4	Secagem em estufa e ventilação	27
1.5.3.5	Secagem fracionada por pressão	28
1.5.3.6	Outras técnicas	29
1.6	Aplicações dos subprodutos da indústria cervejeira	29
1.6.1	Substrato no cultivo de microrganismos e produção de enzimas	29
1.6.2	Produtos de valor acrescentado	30
1.6.3	Suporte ou aditivo no processo de produção de cerveja	31
1.6.4	Alimentação humana e animal.....	32
1.6.5	Outras aplicações.....	34

1.7	Objetivos da dissertação em ambiente empresarial	35
2	<i>Materiais e métodos</i>.....	35
2.1	Preparação e caracterização das amostras.....	35
2.2	Secagem fracionada por pressão	36
2.2.1	Prensagem de subprodutos	37
2.2.2	Secagem de subprodutos	38
2.2.2.1	Secagem da dreche e da mistura de dreche com <i>hot trub</i>	38
2.2.2.2	Secagem da levedura excedentária	40
2.3	Determinação da perda de massa e do teor de humidade.....	42
2.4	Recolha do licor da dreche	45
3	<i>Resultados e discussão</i>	46
3.1	Estratégias de Estabilização dos Subprodutos.....	46
3.1.1	Remoção de água com prensa.....	46
3.1.2	Secagem numa superfície quente.....	48
3.1.2.1	Medição dos teores de humidade	56
3.1.3	Sedimentação e secagem da levedura excedentária	57
3.1.4	Secagem ao ar livre.....	61
3.1.4.1	Secagem da dreche.....	61
3.1.4.2	Secagem da levedura excedentária	62
3.1.4.3	Medição dos teores de humidade	63
3.2	Análise dos sólidos solúveis totais e pH na redução de volume no licor de dreche.....	66
3.3	Perspetivas futuras da secagem de subprodutos.....	67
4	<i>Conclusão</i>	69
5	<i>Bibliografia</i>.....	71

Índice de Figuras

Figura 1. Constituintes principais do grão de cereal seco na secção longitudinal. ⁸	2
Figura 2. Morfologia do lúpulo (adaptado da referência ⁹)	4
Figura 3. Fermentação alcoólica da levedura. ¹⁶	5
Figura 4. Esquema do processo de produção de cerveja e subprodutos gerados (adaptado de ²⁰)	6
Figura 5. Grão após brassagem (BSG), grão húmido no filtro à esquerda e seco à direita. ⁴²	10
Figura 6. Lúpulo residual líquido quente (<i>hot trub</i>) na <i>whirlpool</i>	11
Figura 7. Análise da viabilidade da levedura ao microscópio com azul de metileno.....	13
Figura 8. Lúpulo residual sólido em meias de <i>dry-hopping</i> . ³⁶	13
Figura 9. Levedura excedentária na forma líquida pastosa. ³⁶	13
Figura 10. Microscopia de varrimento de electrões das partículas de BSG. À esquerda ampliação 100 vezes; Direita ampliação 300 vezes, pontos brilhantes representam silicatos. ³⁰	15
Figura 11. Representação esquemática de uma parede celular de um material lenhocelulósico. ³⁷	16
Figura 12. Composição química média da dreche proveniente do grão de cevada. ³⁷ ...	16
Figura 13. Levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . ¹⁰	18
Figura 14. Representação gráfica da composição da parede celular da levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (adaptado de ⁷⁹).....	18
Figura 15. Comparação da estrutura dos α -ácidos com os β -ácidos, predominantes no lúpulo residual ⁴⁴ e formação do produto mais comum proveniente da oxidação do grupo prenil nos β -ácidos. ⁴⁵	19
Figura 16. Água total, livre e ligada do subproduto	21
Figura 17. Curva isotérmica de sorção de alimentos típica com formato sigmoidal e o processo inverso (dessorção), relacionando aw com RH para uma temperatura T. ⁵¹ ..	22
Figura 18. Velocidade/taxa relativa das reações enzimáticas e não enzimáticas e do crescimento microbiano em função da atividade de água (aw). ⁴⁹	24
Figura 19. Esquema do processo de secagem onde a transferência de calor é feita do ar de secagem para micro-clima e a transferência de massa/água é feita do micro-clima para o ar de secagem. ⁵³	25
Figura 20. Frente de secagem de um silo para secagem com ar natural ou temperaturas baixas. ⁵⁶	27

Figura 21. Dreche seca num forno. ⁵⁷	Figura 22. Dreche seca por ventilação. ⁵⁷	28
Figura 23. Disposição da dreche nos dois processos de secagem. À esquerda a dreche numa prensa e à direita a dreche colocada sobre uma rede e grade.		36
Figura 24. Vista de cima do equipamento antes (à esquerda) e após (à direita) a remoção de água com a prensa da mistura de dreche e <i>hot trub</i> .		37
Figura 25. Dreche colocada num tabuleiro ao sol nos dias 4 e 5 de fevereiro na esquerda e direita respetivamente.		39
Figura 26. Levedura excedentária de cerveja loira e trigo colocada nos frascos antes de se colocar no frigorífico a 8,8 °C.		41
Figura 27. Levedura excedentária antes de ser colocada no forno (à esquerda) e levedura excedentária antes de ser seca com o secador (à direita).		42
Figura 28. Balança da marca KERN com o prato da amostra e o vidro com a lâmpada de halogéneo que mede o teor de humidade, aberta e em funcionamento. ⁷²		43
Figura 29. Aumento da temperatura do radiador (elemento de aquecimento) em relação ao tempo de secagem da tecnologia tradicional de IV e da tecnologia de halogénio. ⁷³		44
Figura 30. Aparelho de medição de temperatura e humidade do ar nas instalações fabris à esquerda e aparelho de medição do teor de humidade adaptado para a dreche.		45
Figura 31. Amostras de licor de dreche recolhidas ao longo do tempo.		45
Figura 32. Mistura de dreche com lúpulo gasto com formação de bolores ao final de 6 dias de secagem.		51
Figura 33. Monitorização da variação da massa da dreche sem e com 50 % de <i>hot trub</i> ao longo da secagem numa superfície quente e dos parâmetros de temperatura e humidade do ar para a dreche mais <i>hot trub</i> .		52
Figura 34. Levedura excedentária <i>S. pastorianus</i> (de cerveja loira) a 8,8 °C à esquerda (frasco 1, 2 e 3) após 13 dias e <i>S. cerevisiae</i> (de cerveja trigo) a -23 °C à direita após 3 dias.		58
Figura 35. Levedura seca após a secagem no forno à esquerda e após a secagem com secador à direita.		61
Figura 36. Dreche com bolor e mau cheiro, no dia 24 de Março de 2020, após de 2 meses armazenada no frigorífico.		62
Figura 37. Papel de filtro com cerveja e levedura excedentária seca após 4 dias.		63
Figura 38. Teores de humidade das secagens da dreche em cima do pasteurizador e ao sol ao longo do tempo.		64

Figura 39. Avaliação dos parâmetros do volume, pH e °Brix do licor da dreche durante o processo de concentração ao longo do tempo em minutos.....	66
Figura A1. Esquema de prensagem da dreche de vadia preta e evaporação e recolha do seu licor não filtrado.	77
Figura 40. Esquema que sistematiza as formas de venda da dreche (adaptado de ²⁹), BWG-brewer wet grain, BPG-brewer pressed grain, BCS- Brewer condensed solubles	78

Índice de Tabelas

Tabela 1. Composição química da dreche (BSG) segundo vários autores; nr = não reportado; (adaptado de ^{39,41,42}).....	17
Tabela 2. Composição química da levedura excedentária (BSY)	19
Tabela 3. Valores mínimos de atividade de água (aw) para o crescimento e produção de toxinas de patogénios de importância alimentar. ⁵⁰	23
Tabela 4. Representação dos dados de massa, altura e diferença de massa da dreche antes e depois da prensagem. A coluna de massa da dreche traduz as massas de partida e após a respetiva prensagem medidas no proprio dia de prensagem.	47
Tabela 5. Tabela com as experiências efetuadas: prensagem e secagem em cima do pasteurizador ao longo do tempo, com o teor de humidade (%), atividade de água (aw), microorganismos presentes e observações.	49
Tabela 6. Teores de humidade e percentagem de massa perdida da dreche seca em cima do pasteurizador ao longo do tempo.....	56
Tabela 7. Alturas do líquido, do sólido e totais nos frascos e as suas percentagens.	60
Tabela 8. Percentagens de humidade da dreche secada ao sol com os valores da média das réplicas no 1º ensaio medido com uma balança, o valor do último ponto do 1º ensaio (*) e os intervalos de valores medidos no 2º ensaio com o higrómetro calibrado para madeira.	64
Tabela A1. Dados da massa da dreche e diferença de massa ao longo dos dias, em kg e em percentagem, para a 1ª e 2ª secagem em cima do pasteurizador.	77
Tabela A2. Valores de humidade e temperatura do ar ao longo da secagem de dreche com hot trub.....	78

Siglas e abreviaturas

AGPs Complexos proteína-arabinogalactana

AO7 Corante de ácido de laranja 7

AX Arabinoxilanas

aw *water activity*

BSG *Brewer spent grain*

BSY *Brewer spent yeast*

OR Osmose reversa

RH *Relative humidity*

RNA Ácido Ribonucleico

IV Infravermelho

Glc Glucose

SHS *Superheated steam*

VOCs *Volatile organic compounds*

1 Introdução

1.1 Contextualização da dissertação

A produção de cerveja está ligada essencialmente a três processos biotecnológicos consecutivos: a produção de enzimas pelo grão germinado, a hidrólise do amido em açúcares por estas enzimas e a fermentação destes açúcares em etanol e CO_2 .¹ A cerveja, constituída por lúpulo, cereais maltados, água e leveduras, é um produto valorizado pela sua tradição e qualidade e atualmente é a bebida alcoólica mais consumida no mundo sendo a bebida mais popular a seguir à água e ao chá.² O consumo de cerveja em Portugal no ano de 2018 foi de 527,6 milhões de litros, o que representa uma subida de 0,5 % em relação aos 525,1 milhões de litros consumidos em 2017.³ Mais especificamente, as vendas de cerveja no primeiro semestre de 2019 tiveram o maior crescimento da última década (19 % em valor e 15 % em volume).^{4,5} Este crescimento está relacionado com o aumento de microcervejeiras ou cervejeiras artesanais, que proporcionam dinamismo, ofertas diversificadas de cerveja e o seu consumo fora de casa, associado a atividades de lazer. Desde 2011 até 2019 mais de 115 microcervejeiras entraram em funcionamento em Portugal.⁶ A abertura destas cervejeiras artesanais traz consequências relativamente ao aumento da quantidade de resíduos e subprodutos produzidos, havendo a necessidade de os tratar. Neste âmbito, insere-se o presente estágio curricular na empresa Essência D'Alma, Lda. detentora da marca “Cerveja Vadia”.

A produção de cerveja, nomeadamente na empresa Essência D'Alma, Lda., demonstra ser um negócio inovador, dinâmico e aberto a novos desenvolvimentos científicos e tecnológicos, permitindo pôr em prática a economia circular devido ao aumento do tempo de vida dos subprodutos. Desta forma garante-se um reforço dos pilares da economia e do ambiente, evitando a geração de muitos resíduos e havendo o reaproveitamento destes na alimentação de ruminantes, tornando-se deste modo um processo sustentável. Assim o tema desta dissertação, ou seja, o reaproveitamento e valorização de subprodutos da atividade cervejeira, com vista para os tornar em possíveis co-produtos torna-se num assunto bastante pertinente para a empresa nos dias de hoje.

1.2 Produção de cerveja

A cerveja é definida como uma bebida obtida a partir de um mosto preparado com malte de cereais, principalmente cevada, e outras matérias-primas (adjuntos) que é sujeita à fermentação alcoólica, mediante leveduras selecionadas do género *Saccharomyces*, ao qual foram adicionadas flores de lúpulo ou seus derivados e água potável.⁷

1.2.1 Matérias-primas

1.2.1.1 Água

A água é a matéria-prima em maior quantidade na cerveja. Portanto, a sua composição química e biológica tem bastante relevância na produção de cerveja, uma vez que em todas as etapas do fabrico da cerveja ela é incluída. Em muitos casos o tratamento de água é necessário⁸, de modo a que esta tenha uma composição em sais minerais e pH adequado a cada tipo de cerveja.⁹ Quanto maior a qualidade da água, melhor será a qualidade do produto obtido.¹⁰

1.2.1.2 Malte de cevada

A cevada, *Hordeum vulgare L.*, é o cereal mais utilizado para produção de cerveja e a sua casca permanece nos grãos depois da moagem, funcionando num bom filtro na etapa da filtração.^{1,8} A estrutura externa do grão de cevada, representada na **Figura 1**, é organizada essencialmente em três componentes: a casca, o endosperma e o embrião.¹¹ O endosperma é composto por grânulos de amido e proteínas essenciais ao crescimento do embrião durante a germinação, onde são armazenados em amiloplastos.¹²

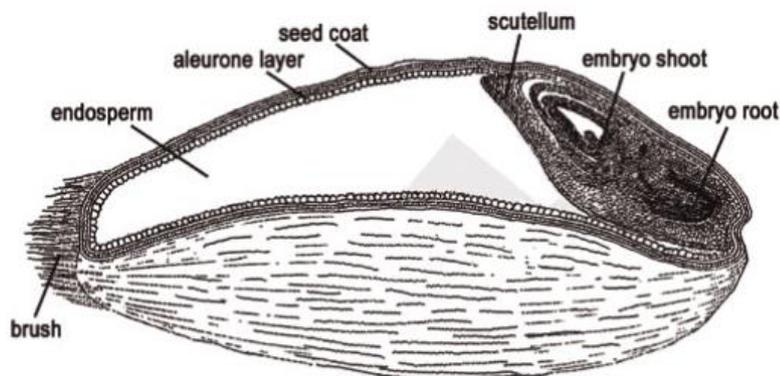


Figura 1. Constituintes principais do grão de cereal seco na secção longitudinal.⁸

A estrutura interna da cevada antes da brassagem é composta por amido (63-65 %), açúcares (1,8-2 %), hemiceluloses (4-7 %), celulose (5-6 %), proteínas (8-13,5 %), lípidos, principalmente ácidos gordos (2-3 %), matéria inorgânica ou minerais (2-3 %), vitaminas, polifenóis e enzimas.^{1,9} O amido é composto por amilose (20-25 %), unida por ligações glicosídicas ($\alpha 1 \rightarrow 4$)-Glc, e amilopectina (75-80 %) que apresenta ligações ($\alpha 1 \rightarrow 4$)-Glc com ramificações de ($\alpha 1 \rightarrow 6$)-Glc, isto vai influenciar a facilidade com que são hidrolisadas pelas amilases.^{1,9} A celulose não é hidrolisada pelas enzimas presentes no grão uma vez que possui ligações ($\beta 1 \rightarrow 4$) de glucose. Os restantes polissacarídeos são compostos por arabinoxilanas (10-20 %) e β -glucanas (80-90 %).¹ As suas estruturas são descritas mais à frente na parte da composição química da dreche. As proteínas principais são as albuminas (11 %), globulinas (15 %), prolaminas (37 %) e gluteínas (30 %). Estas são nutrientes essenciais para a propagação das leveduras, no entanto apenas um terço chega à cerveja final, sendo que o restante permanece no grão usado.¹ A maioria das vitaminas encontradas no grão de cevada pertence ao complexo B, para além destas também está presente a vitamina C.⁹

1.2.1.3 Lúpulo

O lúpulo, *Humulus lupulus L.*, é conhecido como a especiaria principal da cerveja sendo considerado como um ingrediente fundamental para a qualidade da cerveja, influenciando o aroma, amargor e espuma. E no entanto é adicionado em quantidades inferiores em relação ao malte e água.¹³ Este tem um efeito estabilizante na espuma da cerveja devido aos seus compostos hidrofóbicos. Para além de fornecerem aromas e amargores distintivos, a adição de lúpulos, confere à cerveja propriedades antibacterianas.¹⁴

Em termos botânicos, o lúpulo é uma trepadeira em que as inflorescências (onde se localizam as flores) da planta fêmea desenvolvem cones que apresentam glândulas de lupulina, onde são sintetizadas e acumuladas resinas amargas e óleos essenciais (**Figura 2**).^{8,13} As resinas são constituídas por α -ácidos ou humulonas e β -ácidos ou lupulonas. Quanto à sua estrutura, são formados por três constituintes que diferem na cadeia lateral, derivada dos aminoácidos hidrofóbicos: a leucina para a humulona ou lupulona, valina para cohumumona ou colupulona e isoleucina para a adhumulona ou adlupulona. Estes

ácidos conferem amargor à cerveja, sendo que os α -ácidos fornecem mais amargor à cerveja uma vez que são isomerizados durante a fervura do mosto. Os óleos essenciais são importantes para a contribuição de aromas e sabores.^{9,15}

O lúpulo pode ser adicionado na forma de flor, extratos líquidos ou pellets. A forma de pellets é a mais utilizada pois são mais fáceis de manusear, têm tempos de conservação maiores e melhor recuperação do amargor. No entanto devem ser armazenados a baixas temperaturas e em embalagens fechadas para não perder compostos de interesse devido a oxidações.^{1,8}

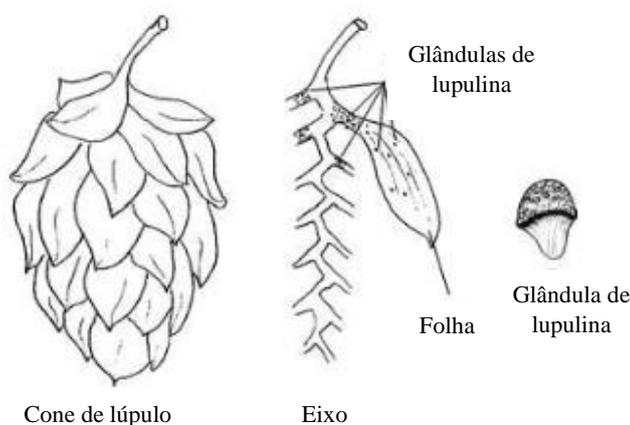


Figura 2. Morfologia do lúpulo (adaptado da referência ⁹).

1.2.1.4 Levedura

A levedura é um fungo unicelular anaeróbio facultativo que pode realizar respiração aeróbia ou fermentação anaeróbia, dependendo se está na presença ou não de oxigênio. Na produção de cerveja, durante a fermentação alcoólica, este organismo é utilizado para converter o açúcar presente no mosto em etanol, dióxido de carbono e metabolitos secundários.¹ Na **Figura 3** estão presentes as várias reações intermediárias que ocorrem no citoplasma da levedura durante a fermentação, desde a glicólise até à formação de etanol dando origem a compostos intermediários como piruvato e acetaldeído.^{1,16}

O género de leveduras mais associado ao fabrico de cerveja é o de *Saccharomyces*, em que normalmente se destacam duas espécies: *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces pastorianus* (híbrido do cruzamento espontâneo da *S. cerevisiae* e *S.*

bayanus), associadas à produção de cervejas do tipo *ale* e *lager*, respectivamente.¹⁷ As leveduras *S. cerevisiae* correspondem a uma fermentação alta, ou seja, com temperaturas mais superiores que a *S. pastorianus*, normalmente de 15 °C a 20 °C, e no final da fermentação encontram-se no topo. Enquanto que as leveduras *S. pastorianus* correspondem a uma fermentação baixa caracterizada pela floculação das leveduras no fundo do fermentador e com temperaturas inferiores, de 6 °C a 14 °C.¹⁷ Apesar destas duas espécies terem uma estrutura superficial similar, apresentam algumas diferenças quanto ao grau de hidrofobicidade, elasticidade da parede celular, propriedades fermentativas, de polissacarídeos, entre outras.¹⁸ Para escolher a levedura ideal tem de se ter em conta o comportamento, desempenho (taxa de fermentação, capacidade de floculação) e produção/degradação de metabolitos secundários.⁹

O crescimento destas leveduras segue sempre o mesmo padrão: uma fase *lag* (aumento do volume celular), fase exponencial ou *log* (crescimento muito rápido), fase estacionária (taxa de crescimento é igual à de morte celular) e por fim uma fase de declínio (taxa de morte é maior que a taxa de crescimento celular).¹⁹ O tempo de cada fase depende do tipo de levedura, nutrientes, meio, pH, temperatura e oxigénio presente.¹ Morfologicamente, a célula de levedura é arredondada, sendo constituída na sua maior parte por água e em peso seco contém cerca de 60% de proteínas, 30% de hidratos de carbono, 4% de lípidos e 6% de minerais.^{1,8}

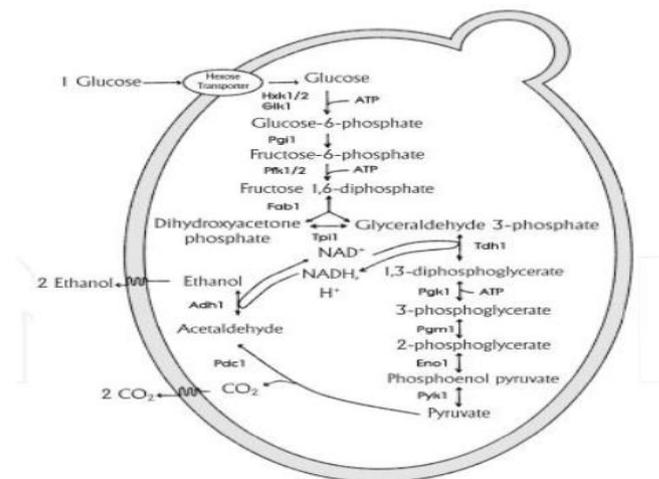


Figura 3. Fermentação alcoólica da levedura.¹⁶

1.2.2 Processo de Produção

O processo de produção de cerveja compreende essencialmente as etapas de: maltagem, moagem, brassagem, filtração, fervura, decantação, fermentação, maturação, clarificação, pasteurização e enchimento. Estas etapas podem sofrer algumas alterações quanto às técnicas utilizadas e execução ou não de algumas delas (pasteurização e filtração). Na **Figura 4** estão representadas as etapas de produção de cerveja, mostrando em quais delas se produz os subprodutos, especificando os vários tipos.

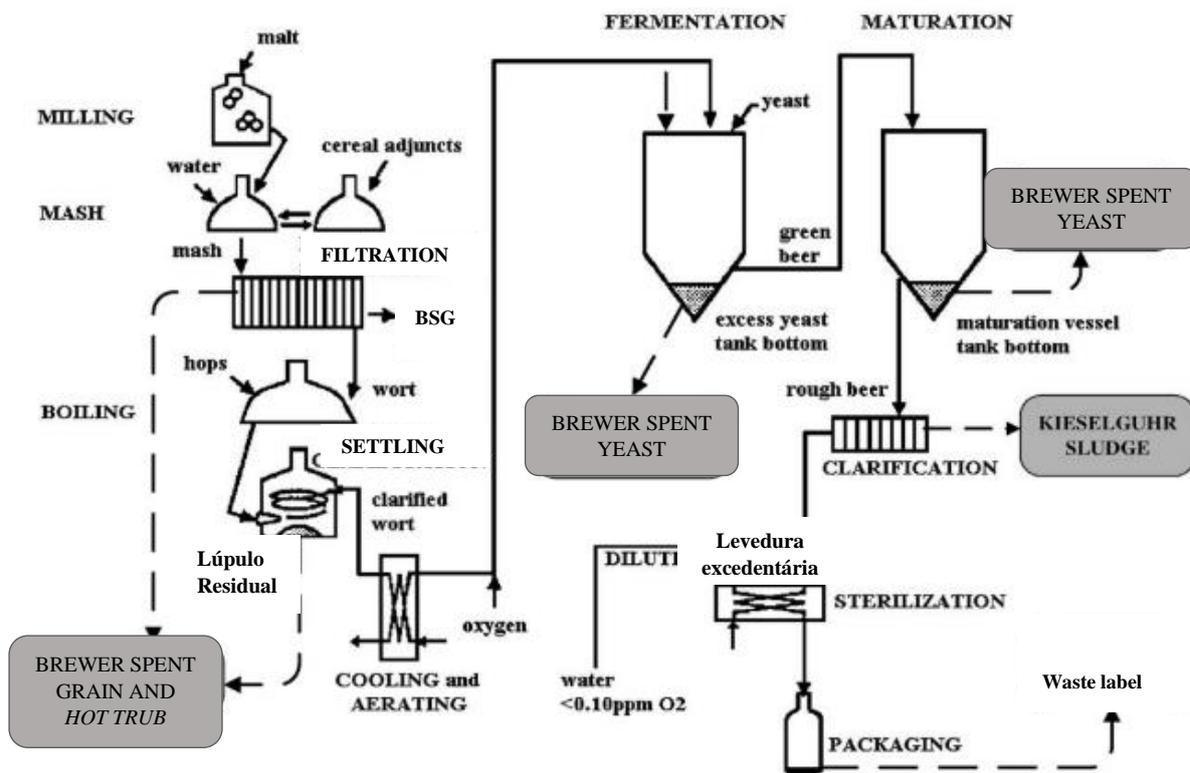


Figura 4. Esquema do processo de produção de cerveja e subprodutos gerados (adaptado de ²⁰).

A maltagem e a moagem consistem, essencialmente, na transformação do amido e proteínas, presentes no grão de cevada, num substrato que seja capaz de se dissolver e ser extraído através de água quente (brassagem), para a formação do mosto.²¹ Na maltagem há a maceração que faz com que o embrião do grão liberte hormonas (giberlinas) para a camada de aleurona, induzindo a formação de proteínas de reserva e enzimas hidrolíticas (α - e β -amilases, proteases e β -glucanases) que mobilizam o amido no endosperma.^{22,23} Para não haver consumo do amido antes da brassagem há a paragem das reações químicas

e enzimáticas através da secagem do grão (torra) formando-se assim o malte, que confere uma vasta variedade de cores e sabores à cerveja final.²⁴ O malte é então moído, de modo a reduzir o seu tamanho e haver maior dispersão de água, para permitir que as enzimas hidrolíticas tenham maior acesso ao amido.^{1,8}

A brassagem começa quando se junta o malte moído com água quente na panela de brassagem, segundo patamares de temperatura até aos 78°C, seguindo o método de decocção ou infusão, aqui também se podem adicionar os adjuntos (cereais não maltados). Nesta fase vão ser ativadas as enzimas do malte que vão continuar as reações hidrolíticas resultando no mosto.¹⁵ Nomeadamente hidrólise de polissacarídeos das paredes celulares (arabinoxilanas e β -glucanas), efetuada pelas enzimas glucanases, xilanases e arabinosidases atuando de 35-45 °C; hidrólise do amido efetuada pelas enzimas β -amilases dos 55-65 °C, α -amilases dos 68-73 °C, maltases e dextrinases; e hidrólise de proteínas dando origem a aminoácidos e péptidos, efetuada pelas enzimas endopeptídases, aminopeptidases, carboxipeptidases e dipeptidases de 45-55 °C.¹⁰ Conforme a temperatura da água, tempo, pH e atividade das diferentes enzimas é possível o controlo da composição do mosto, do teor alcoólico, espuma, cor e turbidez^{8,25} assim como a alteração da composição e características dos grãos de malte gastos.

Na ebulição ou fervura, adiciona-se o lúpulo que, a temperaturas elevadas, isomeriza e confere amargor à cerveja final. Nesta fervura também ocorre concentração e esterilização do mosto, inativação das enzimas, reações de *Maillard* (que conferem aroma e cor ao mosto) e eliminação de substâncias voláteis que causam aromas indesejáveis.^{10,25} Os lúpulos com maior teor em resinas amargas, devem ser usados no início da fervura para que ocorra a isomerização dos α -ácidos (humulona) e extração do amargor, e os lúpulos com menor teor em resinas amargas e mais óleos essenciais devem ser adicionados no final da fervura para privilegiar o aroma ou sabor (floral e frutado).¹³ A isomerização das humulonas é afetada pelo tempo de fervura, pH, temperatura e modo como o lúpulo é utilizado, por exemplo, temperaturas mais altas e a utilização de lúpulo em pellets favorece a extração do amargor.¹ Após a clarificação, o mosto tem de ser arrefecido através de um permutador de placas, onde este a altas temperaturas passa na

direção contrária da água a baixas temperaturas para estar à temperatura ótima da levedura.^{1,17}

O mosto, rico em compostos essenciais para o crescimento da levedura (açúcares fermentáveis, peptídeos e aminoácidos), é então fermentado em cubas cilíndricas para dar origem à cerveja.^{15,26} A fermentação consiste na transformação dos açúcares presentes no mosto em etanol e dióxido de carbono ($C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CO_2 + 2C_2H_5OH + \text{energia}$), passando por várias reações intermediárias e produzindo também metabolitos secundários.^{25,26} Estes açúcares são utilizados pela levedura numa ordem específica: glucose, frutose, maltose e maltotriose. Por isso quando a glucose está presente no mosto há repressão catabólica das outras fontes de carbono.²⁵ Normalmente as leveduras realizam a fermentação quando não há presença de oxigénio (efeito *Pasteur*), no entanto as *S. cerevisiae* são capazes de realizar a fermentação mesmo na presença de altos níveis de oxigénio (*Crabtree* positivas), se houver grande quantidade de glucose no mosto.^{14,16,27} Na maturação há uma diminuição da temperatura, que permite a sedimentação das leveduras, **Figura 4**, e a remoção dos compostos voláteis (diacetilo), que conferem aromas negativos para a cerveja, precipitação de complexos de proteínas e polifenóis, que contribui para uma menor turbidez e consequentemente a melhoria do aroma, cor e estabilidade coloidal/ da espuma da cerveja.^{8,25}

Após isso há a filtração onde há entrada de oxigénio (que pode provocar oxidação da cerveja) e bastante perda de CO_2 , por isso este é restaurado através da sua injeção para a cuba de fermentação, com recurso a bombas ou outros equipamentos (carbonatação de forma artificial).¹⁷ Para evitar esta perda de CO_2 também por norma não é realizada a segunda filtração/clarificação e as leveduras ficam na cerveja mesmo depois do enchimento para refermentar (carbonatação de forma natural), sendo que cervejas com maior teor de CO_2 estão mais protegidas da contaminação microbiana.¹⁷ No final efetua-se o enchimento da cerveja em garrafas escuras ou barris e também pode ser realizada a pasteurização (em “flash” ou em túnel²⁸), tratamento térmico que visa aumentar o tempo de vida do produto final através da eliminação de agentes patogénicos e redução da atividade enzimática.⁸

1.3 Formação de subprodutos da indústria cervejeira

Os subprodutos das pequenas cervejeiras ou microcervejeiras são gerados em quantidades relativamente pequenas quando comparados com cervejeiras maiores, sendo por isso dada pouca atenção a estes subprodutos, no entanto estes podem ser armazenados em grandes quantidades para adição de valor. Durante a produção de cerveja, para além das várias reações bioquímicas que ocorrem durante o processo, esta passa por três separações sólido-líquido: separação do mosto, clarificação do mosto (decantação) e clarificação da cerveja final (2ª filtração). Os subprodutos daí provenientes estão representados na **Figura 4** e são, principalmente, a dreche (BSG), lúpulo gasto proveniente da decantação (*hot trub*) e leveduras excedentárias (BSY).²⁰

Para além destes, esta indústria também desperdiça bastante água, (cerca de 4-11 hL de água por cada hL cerveja, sendo 2/3 usados na fabricação do mosto e 1/3 na lavagem de equipamentos), materiais associados à embalagem (garrafas e rótulos) que pesa, em média, 282 kg por 1000 hL de cerveja, e alguns resíduos da segunda filtração, nomeadamente a terra de diatomácias (*kieselguhr sludge*). Também pode haver desperdício de CO_2 , lúpulo gasto proveniente do *dry-hopping*²⁰ e pó de malte e adjuntos proveniente da moagem dos grãos. No caso dos produtores que fazem o seu próprio malte estes também produzem um subproduto, brotos de malte.²⁹ No entanto, como a maioria destes são produtos agrícolas podem ser facilmente reciclados e reutilizados.³⁰ Todas as cervejeiras tentam manter baixos custos de descarte enquanto a legislação relativa à eliminação de resíduos se torna cada vez mais rigorosa, sendo então que estes resíduos ou subprodutos constituem oportunidades económicas reais para o melhoramento na fabricação de cerveja.²⁰

1.3.1 Formação de dreche

Quando a brassagem está concluída o mosto ainda se encontra em contacto com os resíduos sólidos (grãos de cereais) e outros componentes insolúveis, como lípidos e algumas proteínas, sendo necessário proceder a uma filtração para separar o mosto desta fração sólida, dando origem a um subproduto bastante importante: a dreche (BSG),³¹

representada na **Figura 5**. Este subproduto continua a conter compostos que podem ser interessantes, sendo que pode ter inúmeros tipos de reaproveitamento.³²

Nesta filtração inicialmente retira-se o mosto, e a dreche fica retida no filtro, fazendo-se em seguida uma lavagem com água a temperaturas elevadas para extrair compostos que possam ter ficado adsorvidos no grão.¹ Existem diferentes técnicas para realizar esta filtração, podendo ser o uso de um sistema de filtros ou de uma panela com o fundo já adaptado para filtrar o mosto dos grãos.^{8,25} A dreche (BSG) é o subproduto mais abundante na indústria cervejeira, representando cerca de 85 % dos subprodutos totais. O BSG formado representa 25-30 % de matéria seca (do peso do malte inicial),²⁰ concebendo aproximadamente 20 kg por cada hectolitro de cerveja produzida (~20 %).³⁰ Na Essência D'alma foi estimada a produção de cerca de 28 kg de dreche por cada hL de cerveja produzida.³³ Na Europa, em 2011, a estimativa de dreche produzida foi de 8 milhões toneladas, sendo que a Portugal pertencem 166 mil toneladas.¹⁰



Figura 5. Grão após brassagem (BSG), grão húmido no filtro à esquerda e seco à direita.⁴²

1.3.2 Formação do lúpulo usado/*hot trub*

No final da ebulição, ainda estão presentes, juntamente com o mosto, compostos que são insolúveis e que necessitam de ser removidos. Compostos esses como proteínas coaguladas durante a fervura do mosto, e partículas de lúpulo, que formam uma espécie de pasta que se denomina *hot trub*,³⁴ representado na **Figura 6**. As partículas de *hot trub* são removidas antes do arrefecimento do mosto (**Figura 4**) para garantir o sabor e a estabilidade coloidal da cerveja e evitar uma cor desapropriada e baixa estabilidade de

espuma. Se estas partículas não forem removidas também vão bloquear o permutador de placas durante o arrefecimento do mosto e posteriormente danificar a parede celular das leveduras promovendo a sua sedimentação, obtendo-se uma menor taxa de fermentação.²⁵

Esta separação ou clarificação pode ser feita por várias técnicas, baseadas na separação de partículas com densidade e/ou tamanho diferente. A técnica mais utilizada é a decantação/sedimentação por meio da *Whirlpool*, em que as partículas de *hot trub* acumulam-se e sedimentam-se no centro do tanque após a agitação, onde depois são descartadas.^{8,25} Estas partículas representam outro subproduto, lúpulo usado, que pode ser atraente para várias áreas, por exemplo, o precipitado de proteínas descartado pode ser reutilizado na sacarificação, processo denominado de *trouble*.¹⁰ O rendimento do *hot trub* é entre 400-800 mg de matéria seca por litro de mosto,³⁵ isto é, 15-20 % de teor em matéria seca e 0,2-0,4 % de volume do mosto.³⁴ No entanto a quantidade de *trub* formada depende de muitos fatores: teor de proteínas do malte, quantidade de proteólise durante a maltagem, método da brassagem, conteúdo de polifenóis do malte e lúpulo, método e duração da fervura, oxidação durante a fervura,²⁹ e claro a eficiência de separação do mosto e *hot trub*.³⁴ Apenas 15 % dos seus constituintes são extraídos para a cerveja, por isso cerca de 85% destes permanecem no lúpulo usado, que exige descarte pela cervejeira.²⁹ Na Essência D'alma foi estimada a produção de cerca de 6,4 L de lúpulo usado por cada hL de cerveja produzida.³³



Figura 6. Lúpulo residual líquido quente (*hot trub*) na *whirlpool*

1.3.3 Formação da levedura excedentária

Ao longo da fermentação as leveduras vão continuar reproduzir-se e a sua massa pode aumentar até três a seis vezes o valor inicial, dependendo da estirpe e estado da levedura inoculada e do teor de nutrientes presentes no mosto, nomeadamente os hidratos de carbono, aminoácidos, ácidos gordos livres e minerais como o zinco.²⁹ E com isso vai produzir mais metabolitos secundários (ésteres, álcoois com cadeias superiores, diacetilo, aldeídos e compostos de enxofre) sendo necessário controlo constante de muitos parâmetros (por exemplo, pH e temperatura) e análise da sua viabilidade (no final da maturação ou depois da filtração, **Figura 7**).^{1,8} A viabilidade das leveduras deve ser superior a 95 % numa população para poderem ser reutilizadas, após isso já se mostram pouco eficientes, porque ao longo do tempo vão diminuindo a sua capacidade para metabolizar os açúcares tendo assim menor taxa de fermentação e ocorrendo deterioração celular, acabando por trazer consequências negativas à cerveja, como a sua acidificação.¹⁴ Para evitar então a diminuição do pH (acidificação da cerveja) são realizadas purgas durante a fermentação e no final da maturação, onde algumas leveduras juntamente com restos de “*cold trub*” (lúpulo líquido frio que permaneceu depois da decantação) no fundo da cuba são descartados.¹⁷ A 0 °C é formado cerca de 150 a 300 mg/L de *cold trub*, que acaba no filtro de cartuxo ou de terra de diatomáceas.³⁵

Durante a fermentação ou maturação, para além do descarte de levedura também é realizada outra técnica que provoca o descarte de lúpulo sólido (**Figura 8**). Essa técnica é chamada de *dry-hopping* e consiste na adição do lúpulo após as etapas de arrefecimento do mosto, com objetivo de extrair aromas de lúpulo fresco que se perderam durante a adição do lúpulo em grandes quantidades durante a ebulição/fervura.³⁶

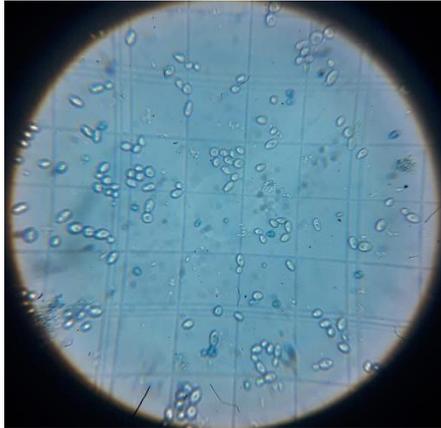


Figura 7. Análise da viabilidade da levedura ao microscópio com azul de metileno.



Figura 8. Lúpulo residual sólido em meias de dry-hopping.³⁶

As leveduras, no final da filtração, normalmente são retiradas da cuba e reutilizadas ao longo de 5 a 10 fermentações sucessivas,¹⁷ mais especificamente, na Essencia D'alma, de 5-7 ciclos fermentativos para a *S. pastorianus* e de 1-3 ciclos para a *S. cerevisiae*.³³ A viabilidade celular é medida na empresa através da observação da levedura ao microscópio usando câmara de contagem (camara de Neubauer) e coloração com azul de metileno, onde as células azuis estão mortas e as brancas vivas. Após muitas fermentações, quando a viabilidade é abaixo dos 95 %, as leveduras são então descartadas (leveduras excedentárias) sob a forma líquida e pastosa (**Figura 9**). A levedura seca excedentária (BSY) é o segundo subproduto mais produzido numa cervejeira, representando, em peso seco, cerca de 10 %, ou seja 1,5 a 3 g de levedura excedentária por L de cerveja produzida.²⁰ Este subproduto, depositado no fermentador, possui um teor de matéria seca de 10-14 %²⁹ e constitui, no final, um subproduto que também pode ser valioso.



Figura 9. Levedura excedentária na forma líquida pastosa.³⁶

1.3.4 Formação de lamas de diatomáceas

Depois da maturação, quando a cerveja é mantida a frio, as leveduras que continuam em suspensão necessitam de ser removidas do mosto quer por floculação, centrifugação ou filtração.¹⁴ Esta remoção normalmente é feita por filtração, com filtros de terra de diatomáceas ou de cartuxo,¹⁷ para deixar a cerveja o menos turva possível.^{8,25} Nos filtros de cartuxo ficam retidas as leveduras que não foram purgadas e o lúpulo usado (*cold trub*), se forem utilizados filtros de terras, juntam-se a este resíduo (*filter cake*) as lamas de diatomáceas (em inglês, *kieselguhr sludge*), **Figura 4**, outro subproduto que pode ser reaproveitado. Se for feita uma segunda filtração e forem utilizadas terras de diatomáceas, cerca de 1-2 g de terras são consumidas, por litro de cerveja clarificada, onde a lama daí proveniente (contendo água e substâncias orgânicas) é mais do triplo do seu peso, trazendo principalmente implicações sanitárias.

1.4 Composição química dos subprodutos da indústria cervejeira

1.4.1 Dreche

A dreche consiste basicamente nas camadas de revestimento da semente, casca e pericarpo que cobrem o grão de cevada original. Estas camadas de revestimento são ricas em polissacarídeos celulósicos e não celulósicos, lenhina, algumas proteínas e lípidos, e níveis baixos de β -glucanas, resíduos de glucose ligados ligações mistas por ($\beta 1 \rightarrow 4$) e ($\beta 1 \rightarrow 3$) (10%) e de amido não convertido durante a brassagem (4%). A casca também contém quantidades consideráveis de sílica (silicatos), **Figura 10**, correspondente a 25% dos minerais presentes na cevada, e muitos componentes polifenólicos do grão de cevada. Dependendo da uniformidade da brassagem e do regime de fabricação de cerveja utilizado, podem permanecer paredes de células vazias de aleurona, endosperma amiláceo e também alguns resíduos de lúpulo.³⁰

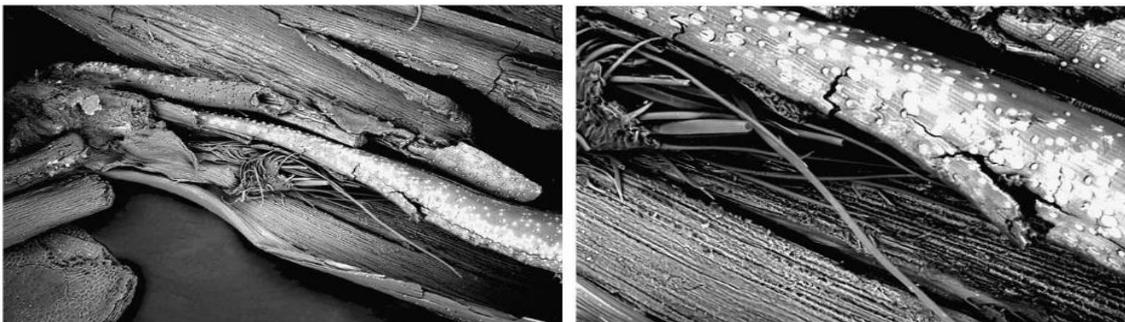


Figura 10. Microscopia de varrimento de electrões das partículas de BSG. À esquerda ampliação 100 vezes; Direita ampliação 300 vezes, pontos brilhantes representam silicatos ³⁰

O BSG, em geral, é um material lenhocelulósico composto por 20-30 % de proteína e até cerca de 70 % de fibra, com base no peso seco, estes estão altamente concentrados porque a maior parte do amido da cevada foi removido durante a brassagem.³⁰ A maioria destes tecidos fibrosos, representados na **Figura 11**, são compostos por hemicelulose e celulose (homopolímero linear de unidades de glucose em ligação ($\beta 1 \rightarrow 4$)) representando juntas cerca de 50% da composição da dreche (**Figura 12**), e também lenhina. A hemicelulose, constituinte principal do BSG, é composta essencialmente por arabinoxilanas (AX, 22-23 %) que podem chegar até 40 %, com base na massa seca. As arabinoxilanas são o segundo principal polissacarídeo em cereais e gramíneas e propõe-se que estas estejam fixadas às fibrilas de celulose por ligações de hidrogénio.³⁷ Estruturalmente as arabinoxilanas consistem numa cadeia principal de resíduos de D-xilose, unidos por ligações ($\beta 1 \rightarrow 4$) com ramificações laterais de L-arabinose em ligações ($\alpha 1 \rightarrow 2$) e/ou ($\alpha 1 \rightarrow 3$).³⁸ Os monossacarídeos mais abundantes no BSG são xilose, glucose e arabinose, podendo haver também alguns vestígios de ramnose e galactose. Outro constituinte significativo da dreche é a lenhina, representando cerca de 10-28 % do peso seco total, esta é uma macromolécula que contém vários componentes fenólicos, principalmente ácidos como ferúlico, *p*-cumárico, sérico, vanílico e *p*-hidroxibenzóico,³⁰ é importante na manutenção da rigidez estrutural e integridade das paredes celulares das plantas.³⁷

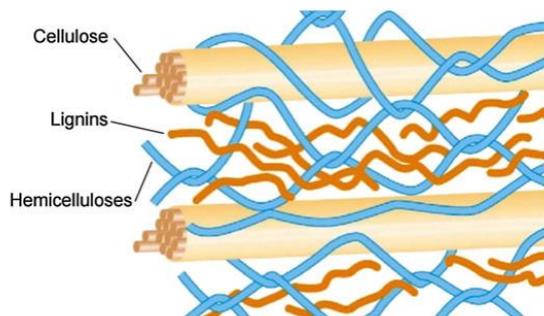


Figura 11. Representação esquemática de uma parede celular de um material lenhocelulósico³⁷

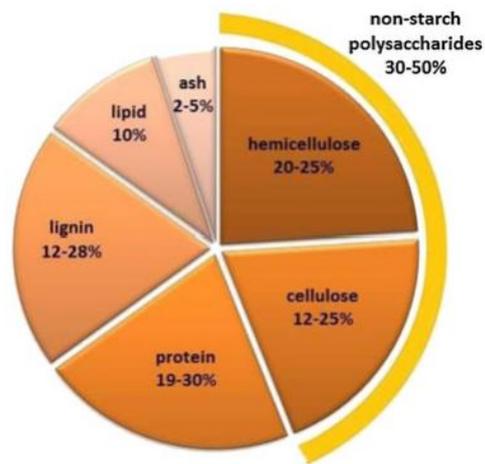


Figura 12. Composição química média da dreche proveniente do grão de cevada³⁷

Para além da fibra e da proteína também se verifica a existência de vitaminas, como colina (1800 ppm), niacina (44 ppm) e ácido pantoténico (8,5 ppm); de minerais (1,13 %), onde silício (242 ppm), fósforo (1977 ppm), cálcio (1038,5 ppm) e magnésio (687,5 ppm) são os mais abundantes;³⁹ aminoácidos, como leucina (6,12 %), histidina (26 %) e ácido glutâmico (17 %) representados por percentagem de proteína total;⁴⁰ lípidos (7-6 %) e cinzas (3-4 %).⁴¹ As proteínas mais abundantes na dreche são hordeínas, glutelinas, globulinas e albuminas. Os aminoácidos essenciais representam cerca de 30% do conteúdo total de proteínas, sendo a lisina a mais abundante (14,3 %).⁴⁰ Isso é significativo porque frequentemente em alimentos de cereais a lisina é um aminoácido em défice.³⁷ Os lípidos incluem tri- e diacilgliceróis, ácidos gordos (ácidos palmítico, oleico e linoléico) e esteróis. A dreche também contém quantidades consideráveis de ceras, amido, resinas, polifenóis, óleos essenciais e vários outros constituintes citoplasmáticos. Apesar disto, a dreche tem uma composição heterogénea, particularmente no que diz respeito à variação entre cervejeiras. A variabilidade da sua composição química deve-se a vários fatores, variedade do grão, tempo de colheita, condições de maltagem e de brassagem, e a qualidade e tipo de lúpulo e adjuntos adicionados no processo de produção de cerveja. Na **Tabela 1** são apresentados alguns resultados da bibliografia para a composição química da dreche, mostrando essas variações.³⁰

Tabela 1. Composição química da dreche (BSG) segundo vários autores; nr = não reportado; (adaptado de ^{39,41,42}).

Componentes (% massa seca)	Kanauchi et al. (2001)	Carvalho et al. (2004)	Silva et al. (2004)	Mussatto et al. (2006)	Waters et al. (2012)	Meneses et al. (2013)	Vieira et al. (2014)
Celulose	25,4	21,9	25,3	16,8	26,0	21,7	8,9-17,8
Arabinosilanas	21,8	29,6	41,9	28,4	22,2	19,2	20,7-26,9
Lenhina	11,9	21,7	16,9	27,8	nr	19,4	nr
Proteínas	24,0	24,6	nr	15,3	22,1	24,7	26,4-35,4
Lípidos	10,6	nr	nr	nr	nr	nr	6,9-7,9
Cinzas	2,4	1,2	4,6	4,6	1,1	4,2	3,58-4,38

1.4.2 Levedura excedentária

A levedura excedentária (BSY) é outro subproduto com muito potencial de valorização tendo em conta a sua composição química. Os seus polissacarídeos, por exemplo, têm atividades imunoestimuladoras, antioxidantes e anti-tumorais e efeitos emulsificantes e prebióticos.⁴³ O elemento mais abundante nas células de levedura é o carbono, responsável por cerca de 50 % da massa seca. Outros componentes elementares principais são oxigénio (30-35 %), azoto (5 %), hidrogénio (5 %) e fósforo (1 %). As classes mais abundantes de macromoléculas da parede celular da levedura excedentária são as proteínas e carboidratos (**Tabela 2**). As proteínas presentes na superfície da levedura *S. cerevisiae* permitem o fenómeno da floculação, devido à sua associação hidrofóbica com bolhas de CO_2 , já a superfície de *S. pastorianus* é pobre em proteínas e muito mais hidrofílica, explicando sua tendência para se depositar no fundo durante o processo cervejeiro.⁴³ No entanto, a proporção e a composição química de cada classe de macromoléculas dentro da célula de levedura varia em função da condição fisiológica e da fase do ciclo de crescimento.⁴²

A maioria da informação disponível relativa aos polissacarídeos da parede celular da levedura excedentária diz respeito à *Saccharomyces cerevisiae* (**Figura 13**). Esta é composta essencialmente por β -glucanas e manoproteínas, mas também por quitina e glicogénio (**Figura 14**). As β -glucanas são compostas por ligações ($\beta 1 \rightarrow 3$) e ($\beta 1 \rightarrow 6$) de resíduos de glucose, na proporção de 5:1. O glicogénio é composto por ligações ($\alpha 1 \rightarrow 4$)-

Glc e $(\alpha 1 \rightarrow 4,6)$ -Glc. As manoproteínas são constituídas principalmente por resíduos de manose (89-96 %), formando uma estrutura de cadeia curta e altamente ramificada, unidos por ligações $(\alpha 1 \rightarrow 6)$, juntamente com ligações $(\alpha 1 \rightarrow 2)$ - e $(\alpha 1 \rightarrow 3)$ - de resíduos lineares e há um local único de ancoragem à proteína. Pequenas quantidades de glucose, galactose e xilose também podem estar ligadas à porção proteica.⁴³

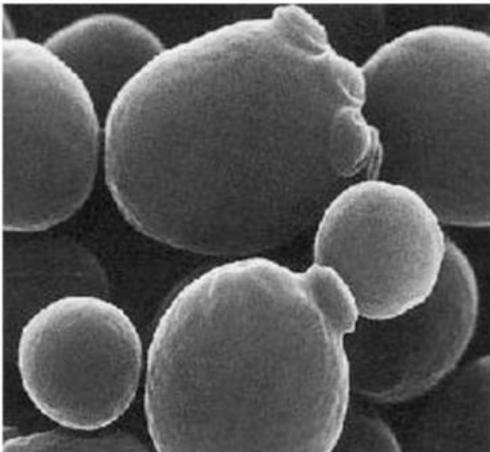


Figura 13. Levedura *Saccharomyces cerevisiae*.¹⁰

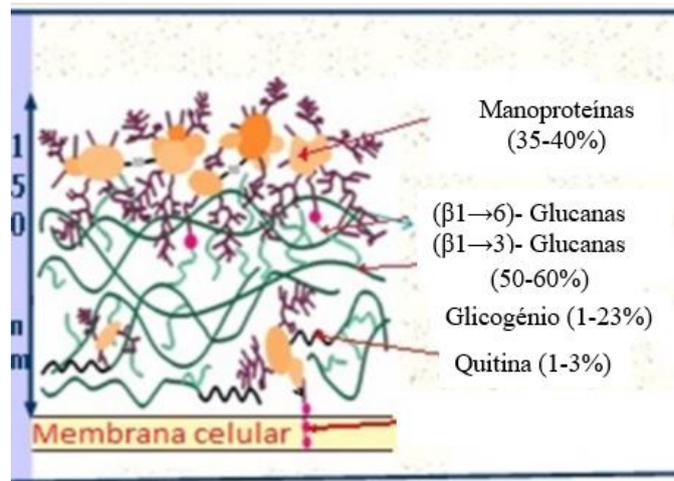


Figura 14. Representação gráfica da composição da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (adaptado de⁷⁹).

O conteúdo de proteínas na levedura apresenta vários aminoácidos ligados, onde a leucina, a lisina e a tirosina são as mais abundantes. Também é rica em vitaminas (biotina, colina, ácido fólico, niacina, ácido pantoténico, riboflavina, tiamina e vitamina B-6), principalmente niacina. O conteúdo mineral total de levedura é de aproximadamente 5 a 10 % da massa seca da célula de levedura, compreendendo elementos como cobalto, cobre, manganês e selênio, sendo que os mais abundantes são potássio e fósforo.⁴²

Tabela 2. Composição química da levedura excedentária (BSY)

Componentes	% em massa seca na levedura ⁴²	Polissacarídeos na parede celular ⁴³
Carboidratos (fibras)	36-42	Manoproteínas (35-40%)
		β-glucanas (50-60%)
		Quitina (1-3%)
		Glicogénio (1-23%)
Proteínas	48-50	-----
Lípidos	1	
Cinzas	7-8	
Minerais	5-10	

1.4.3 Lúpulo usado/ hot trub

Dos 85 % de constituintes do lúpulo que permanecem no resíduo do lúpulo, podem ser referidas as lupulonas (β-ácidos) e os compostos polifenólicos do lúpulo: ácidos *p*-hidroxicumárico, ferúlico e cafeico; flavonas e antocianinas. A existência de mais uma cadeia lateral com o grupo prenil (3-metil-but-2-en-1-il) nas lupulonas (**Figura 15**) faz com que sejam significativamente mais hidrofóbicas que as humulonas, tornando-as praticamente insolúveis em meio aquoso e pouco presentes na cerveja. E portanto, na fervura do mosto, as lupulonas normalmente não sofrem isomerização mas sim oxidação⁴⁴ e os compostos fenólicos são precipitados com proteínas, acabando por se juntar ao lúpulo residual.⁴²

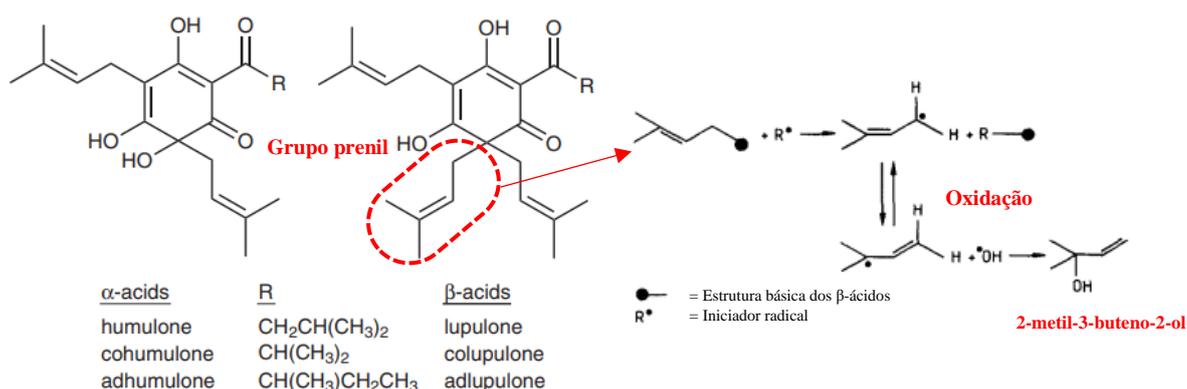


Figura 11. Comparação da estrutura dos α-ácidos com os β-ácidos, predominantes no lúpulo residual⁴⁴ e formação do produto mais comum proveniente da oxidação do grupo prenil nos β-ácidos.⁴⁵

O lúpulo gasto é um material com grandes quantidades de azoto, fibras e proteínas.⁴² A fibra bruta é constituída por vários polissacarídeos, nomeadamente as xiloglucanas constituídas principalmente por resíduos de glucose e xilose, e polissacarídeos pécticos. Os polissacarídeos pécticos presentes são homogalacturonanas e complexos proteína-arabinogalactana (AGPs) e representam grande parte (46 %) dos polissacarídeos do lúpulo gasto. As AGPs (fração de alto peso molecular) consistem, no geral, em 90% de arabinogalactanas e 10% de proteína. As primeiras são compostas por uma cadeia principal de resíduos de galactose em ligação ($\beta 1 \rightarrow 3$) e ramificações de cadeias laterais com ligações ($\alpha 1 \rightarrow 6$) de arabinose. E a fração proteica é rica em cisteína, treonina, serina, alanina e hidroxiprolina.⁴⁶ Os lúpulos usados têm a presença de ácidos carboxílicos alifáticos que incluem os ácidos oxálico, glucónico, láctico, acético, entre outros.⁴²

As partículas de *hot trub* têm um tamanho de 30 a 80 μm e são compostas, em média, por proteínas (40-70 %), β -ácidos (10-20 %), polifenóis (7-8 %), carboidratos (7-10 %), ácidos gordos livres (1-2 %) e substâncias minerais.^{25,42} O lúpulo gasto é constituído por cerca de 0,11 % de terpenos ou óleos essenciais, onde os principais constituintes são mirceno (24,2 %), α -humuleno (16,2 %) e β -cariofileno (6,6 %). Estes podem ser utilizados em cosméticos, perfumes, solvente ou matéria-prima para a produção de tintas, ceras, conservar alimentos, inseticida, repelente e agente de limpeza natural, como enunciado mais à frente. O próprio lúpulo gasto mostrou ser um excelente recurso de baixo custo para a produção de alternativas ecológicas aos repelentes sintéticos.⁴⁷

1.5 Estabilização dos subprodutos da indústria cervejeira

Devido à produção de pequenas quantidades de subprodutos em microcervejeiras como a Essência D'alma, estes não conseguem ser valorizados em grandes indústrias como na alimentação animal, ou na extração de compostos, pois é necessário a sua produção em grande escala. E com pequenas quantidades teria de se armazenar ao longo do tempo para serem vendidos em maior escala, e daí surge o problema destes subprodutos se estragarem. O armazenamento e a posterior utilização destes subprodutos é dificultada principalmente pelo seu alto teor de humidade.⁴⁸

1.5.1 Atividade de água

A conservação de alimentos não depende diretamente do teor de humidade, mas sim da atividade de água (a_w), dada pela seguinte equação:

$$a_w = \frac{P}{P_0} = \frac{RH_{eq}}{100} \quad \text{(Equação 1)}$$

Onde a_w é a atividade de água, P é a pressão de vapor de água do alimento, P_0 é a pressão de vapor de água pura, numa escala de 0 a 1, para a mesma temperatura T e RH_{eq} é a humidade relativa de equilíbrio do produto em % (equilíbrio higroscópico). Se RH não estiver em equilíbrio, quer dizer que houve absorção/adsorção ($RH > a_w$) ou perda/dessorção ($RH < a_w$) de água.⁴⁹

O teor de humidade mede apenas a percentagem do peso de toda a água presente no alimento (tanto livre quanto ligada), **Figura 16**, enquanto que a a_w permite avaliar a água livre (ou água não ligada às moléculas dos alimentos), que é suscetível ao crescimento de bactérias, leveduras e fungos e desenvolvimento de outras reações (como reações enzimáticas).⁵⁰

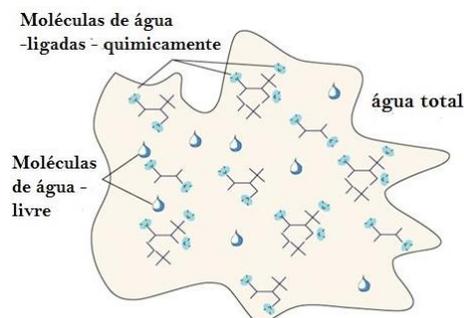


Figura 12. Água total, livre e ligada do subproduto

A a_w relaciona-se com o teor de humidade através da curva isotérmica de sorção dos alimentos. Cada produto tem uma curva isotérmica de sorção característica, sendo que o formato desta depende da sua composição química e estrutura física, pelo que a mais comum é a sigmoideal, podendo-se também aplicar aos subprodutos da atividade cervejeira. Geralmente, para um mesmo alimento, uma isotérmica de adsorção apresenta

valores inferiores aos da isotérmica de dessorção, fenómeno conhecido como histerese (Figura 17).⁵¹

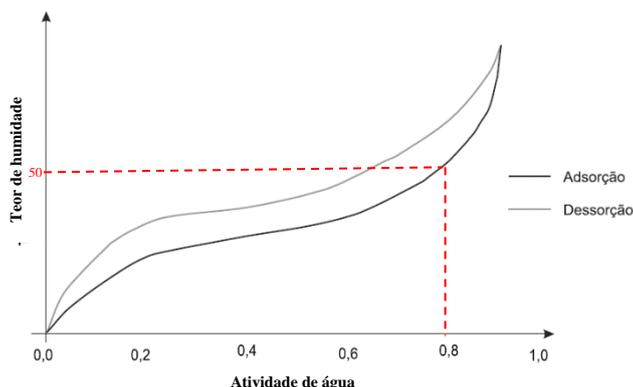


Figura 13. Curva isotérmica de sorção de alimentos típica com formato sigmoideal e o processo inverso (dessorção), relacionando a_w com RH para uma temperatura T .⁵¹

Para alimentos com teor de humidade superior a 50 %, como é o caso dos subprodutos da atividade cervejeira, cerca de 77-81 % na dreche,³⁰ 80-85 % no lúpulo residual³⁴ e cerca da 86-90 % nas leveduras excedentárias,²⁰ compreendem uma a_w superior a 0,80 (Figura 17).⁴⁹

1.5.2 Alterações microbiológicas, químicas e físicas

Devido à elevada atividade de água ($a_w > 0,80$) dos subprodutos cervejeiros, a sua preservação em condições ambientais normais (temperatura, condições aeróbicas, etc.), associado ao seu teor de polissacarídeos e proteína torna-os particularmente suscetíveis à deterioração pelo crescimento microbiano de fungos, leveduras e bactérias (Tabela 3) (7 a 10 dias no caso da dreche).⁴⁸ Por exemplo, após o isolamento da dreche húmida em sacos serapilheira verificou-se que esta tem a presença de pelo menos 8 espécies diferentes de microrganismos, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* e *Rhizopus* após um mês.^{30,52}

Tabela 3. Valores mínimos de atividade de água (a_w) para o crescimento e produção de toxinas de patógenos de importância alimentar.⁵⁰

Microrganismos	a_w para crescimento	a_w para produção de toxinas
<i>Clostridium botulinum</i> (tipo E)	0,95-0,97	0,97
<i>Clostridium botulinum</i> (tipo A)	0,93-0,95	0,94-0,95
<i>Clostridium perfringens</i>	0,93-0,95	
<i>Salmonella sp.</i>	0,92-0,95	
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,86	0,87-0,90 (enterotoxina A)
<i>P. veridicatum</i>	0,83	0,83-0,86 (ocratoxina A)
<i>A. parasiticus</i>	0,82	0,87
<i>Penicillium cyclopium</i>	0,81- 0,85	0,87-0,90(ocratoxina)
<i>A. flavus</i>	0,78-0,80	0,83-0,87 (aflatoxina)
<i>A. ochraceus</i>	0,77-0,83	0,83-0,87 (ocratoxina A)
Bactérias halofílicas	0,75	
Bolores xerofílicos	0,65	
Fungos osmofílicos	0,60	

A atividade de água para além de provocar alterações microbiológicas, também origina alterações químicas e físicas indesejáveis durante o armazenamento de subprodutos, como a degradação de sabor, cor e textura. Mais especificamente alterações como a oxidação de lípidos (provocadas pela temperatura, radiações luminosas e O_2), alterações catalisadas por enzimas como o escurecimento enzimático, o escurecimento não enzimático (reação de *Maillard*) degradação de pigmentos (podem prejudicar a aceitação do produto) e vitaminas (reduz o valor nutricional dos alimentos) e alterações de textura associadas à absorção ou à perda de humidade (provocam alterações sensoriais).⁵¹

Para uma $a_w < 0,60$ não há crescimento de microrganismos (embora eles possam sobreviver),⁵¹ podendo-se assegurar subprodutos estáveis microbiologicamente (**Figura 18**) não comprometendo a segurança alimentar do consumidor, por isso o teor de humidade relativa necessita de ser reduzido até cerca de 16 % ou valores inferiores.³³

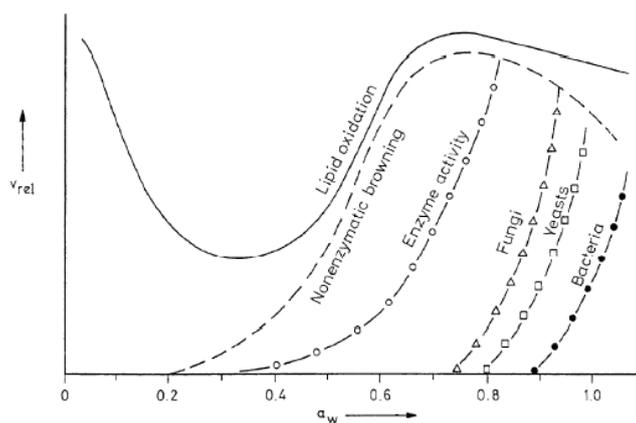


Figura 14. Velocidade/taxa relativa das reações enzimáticas e não enzimáticas e do crescimento microbiano em função da atividade de água (a_w).⁴⁹

1.5.3 Métodos de estabilização

Os dados sobre a preservação de subprodutos húmidos da indústria cervejeira são muito escassos e portanto, a documentação de uma estratégia de estabilização eficiente é crucial para a posterior valorização dos mesmos, ou seja, a utilização apropriada sem degradação e perda de qualidade. Por isso, vários métodos têm sido propostos para prolongar o tempo de armazenamento destes subprodutos,⁴⁸ métodos como esterilização, refrigeração, congelamento, secagem ao sol ou em fornos, liofilização, atomização (*Spray-drying*) e aditivos químicos (ácidos, sais, açúcares).⁵¹ Para a preservação ou estabilização dos subprodutos cervejeiros, em específico a dreche, o método mais utilizado e mais eficaz é a secagem.⁴⁸

Na secagem há remoção ou diminuição da quantidade de água no subproduto. Este processo consiste em colocar o subproduto num local onde passe volume de ar seco, normalmente quente, ocorrendo a transferência de calor da fonte quente para o material húmido. Isto promove a migração da humidade para a camada de ar que envolve a superfície do subproduto (microclima), e conseqüentemente a transferência dessa humidade (massa de vapor) para o ar de secagem, devido à humidade relativa do microclima (RH_g) ser superior à humidade relativa do ar (RH_{ac}). Como o ar de secagem cede calor e recebe humidade pelo subproduto, a sua temperatura diminui e a humidade relativa aumenta (RH_{ae}), passando a ser denominado de ar saturado ou de exaustão, conforme ilustrado na **Figura 19**.^{51,53} Essa transferência simultânea de massa e calor

ocorre tanto na camada limite do subproduto como no interior e tem como principal objetivo a diminuição das alterações biológicas.⁴⁸

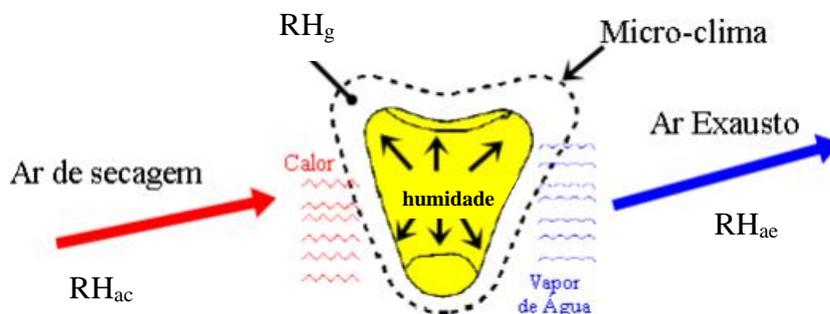


Figura 15. Esquema do processo de secagem onde a transferência de calor é feita do ar de secagem para micro-clima e a transferência de massa/água é feita do micro-clima para o ar de secagem.⁵³

A preservação dos subprodutos pelo método de secagem tem a vantagem de reduzir o peso e volume (pois o alimento seco é mais leve e compacto), aumentar a concentração de nutrientes (devido à perda de água), diminuir os custos de transporte e armazenamento e assim aumentar a vida útil do subproduto e o seu valor no mercado.³⁹

1.5.3.1 Tratamentos de pré-secagem

Antes da desidratação ou secagem, geralmente são adicionados conservantes químicos (com atividade antioxidante e antibacteriana) para impedir ou retardar alterações provocadas por microrganismos, preservando a qualidade e o valor nutricional dos subprodutos cervejeiros. Os aditivos químicos mais utilizados são os ácidos orgânicos, como por exemplo ácidos láctico, fórmico, acético, benzóico, cítrico, fosfórico, ascórbico (vitamina C) e seus sais como sorbato de potássio (aplicado na dreche prensada).⁵¹ Os ácidos benzóico e fórmico são os mais eficazes na preservação da dreche visto que não foi detectada atividade microbiana após 3 meses de armazenamento durante verão em recipientes de plástico fechados.⁵⁴

Outros aditivos podem ser os sulfitos ou dióxido de enxofre (SO_2) e sais derivados, nitritos/nitratos, parabenos (ésteres do ácido *p*-hidroxibenzóico), conservantes naturais (bacteriocinas, antimicrobianos derivados de plantas e quitosanas) e também enzimas (lizosima, glucose oxidase, lactoperoxidase). Os sulfitos e nitritos/nitratos são mais

efetivos contra bactérias e os parabenos são mais efetivos contra fungos filamentosos e leveduras.⁵¹ Além de sua ação antimicrobiana também retardam a oxidação de lípidos e inibem o escurecimento (enzimático e não enzimático).⁵⁵ Também pode ser efetuada a adição conjunta destes aditivos químicos.⁵¹

1.5.3.2 Secagem Natural

A secagem dos subprodutos pode ser feita de um modo natural por radiação solar e entalpia do ar, onde estes são dispersos em camadas finas num terreno ou numa bandeja, requerendo revolvimentos frequentes e encobrimento noturno. Esta pode ser aplicada em regiões com temperatura média de 35-40 °C, com boa taxa de radiação solar, baixa humidade relativa do ar e baixo índice de poluição. Este tipo de secagem não acarreta custos energéticos no entanto é demorada e está bastante dependente das condições climáticas.⁵¹

1.5.3.3 Ensilagem

Uma alternativa eficiente para armazenamento e preservação da qualidade nutritiva da dreche (BSG) é a ensilagem (**Figura 20**), por ser menos dependente das condições atmosféricas. Baseia-se na remoção de oxigénio para promover a fermentação anaeróbica de açúcares a ácido láctico, aumento na acidez e consequentemente redução do pH. Quando o pH é suficientemente baixo (3,8-4,2 no caso da ensilagem de milho) há inibição da degradação por enzimas vegetais degradantes de proteínas, por espécies bacterianas, leveduras, fungos e bactérias do próprio ácido láctico.⁵⁶ Esta técnica é utilizada em grãos como grãos de milho e poderá ser aplicada também na dreche. O conhecimento do funcionamento da ensilagem, para preservar subprodutos por fermentação, é muito importante para minimizar perdas inevitáveis de alimentos frescos.⁵⁶ A ensilagem requer investimento de mão de obra e exige a procura de técnicos experientes, contudo será mais económico em relação à secagem com ar forçado por exemplo.

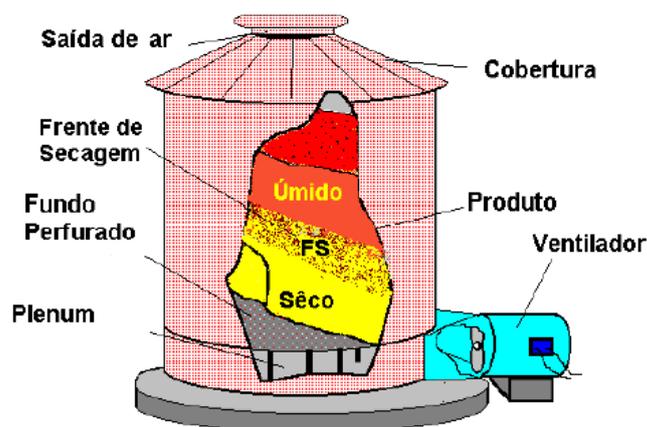


Figura 16. Frente de secagem de um silo para secagem com ar natural ou temperaturas baixas. ⁵⁶

1.5.3.4 Secagem em estufa e ventilação

A secagem dos subprodutos em estufa ou forno (**Figura 21**) mostra-se eficiente na redução do volume do subproduto e não altera composição química. A secagem em estufa deve ser controlada a uma temperatura na ordem dos 60 °C, pois a temperaturas superiores pode haver perda do valor nutricional através de reações de escurecimento, particularmente reações de *Maillard*, caramelização, perda de compostos voláteis e alterações na textura.³⁰ A ventilação com ar frio ou quente também pode ser usada para a secagem dos subprodutos em pequenas cervejeiras (**Figura 22**). A utilização de ventilação com ar aquecido é mais eficiente que a ar frio, e também mais eficiente que a secagem em fornos, pois a 60 °C durante 20 h com convecção natural a perda de água foi em média 24,8 %, e no uso da ventilação forçada a 35 °C e 52 °C durante 30 min a drecche perdeu em média 63 %. Para aquecimento de ar ventilado o calor excedente recebido da produção de cerveja pode ser usado, ou então pode ser utilizado um forno com ventilação.⁵⁷ No entanto estes processos podem consumir muita energia e muitas fábricas da indústria cervejeira, nomeadamente cervejeiras artesanais, não conseguem suportar os custos destas práticas de secagem.³⁹

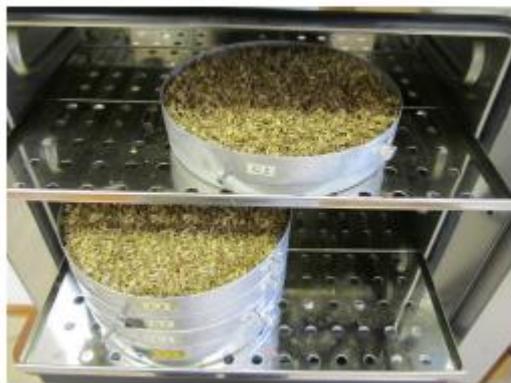


Figura 17. Dreche seca num forno. ⁵⁷



Figura 18. Dreche seca por ventilação. ⁵⁷

1.5.3.5 Secagem fracionada por pressão

Na maioria das vezes, o que é usado pelas fábricas de cerveja para reduzir os custos de secagem, e que pode ser aplicado na Essência d'alma, é a técnica de secagem fracionada por pressão, onde inicialmente a dreche é desidratada através de prensas contínuas de parafusos ou de rolos,²⁹ até o conteúdo de água ser reduzido para menos de 65 % e posteriormente é que se realiza a secagem em si (quer seja natural ou com fornecimento de calor ou ar), para garantir que o teor de humidade esteja abaixo de 10 %.⁵⁸

A fração líquida extraída através da compressão da dreche (licor) é bastante rica em sólidos dissolvidos (até 3,5 %) e suspensos (até 5 %) que representam compostos nutritivos sobretudo hidratos de carbono solúveis. Em vez de ser descartado, este licor pode ser reciclado na cervejaria ou aproveitado para fins alimentares se estiver na forma sólida ou se for feita a sua concentração (por evaporação do solvente); ou ainda pode ser misturado com a dreche ou outros subprodutos podendo ser ou não submetido a secagem posterior. Devido aos sólidos presentes no licor, os fabricantes de cerveja procuram oportunidades para o valorizar.²⁹ Tal como a dreche, a secagem da levedura pode ser feita por prensagem ou com filtros rotativos a vácuo, sendo que o líquido proveniente corresponde a cerveja recuperada.

1.5.3.6 Outras técnicas

É de referir outras técnicas de secagem que foram aplicadas em subprodutos, nomeadamente na dreche, e que também demonstraram eficiência, como concentração por filtros de membranas, uso de tambores rotativos e vapor superaquecido. Na utilização de filtros de membranas, o princípio utilizado é a osmose reversa (OR),⁵¹ onde a dreche previamente lavada com água quente (a 65 °C) e filtrada sobre pressão (3–5 bar) utilizando vácuo reduziu o seu teor de humidade até 20-30 %, prevenindo o desenvolvimento microbiano nos 6 meses seguintes.⁵⁹ Na secagem de tambores cilíndricos rotativos, o teor de humidade da dreche é diminuído por aumento da temperatura, esta é aplicada na superfície do tambor e forma-se uma película que é desidratada (por contacto com a parede quente do tambor) e raspada.^{39,48} A secagem a vapor superaquecido (SHS) fornece vantagens como maior eficiência energética, taxas de secagem mais rápidas, sem emissão de odor ou partículas e recuperação de compostos orgânicos voláteis de interesse que foram perdidos durante a secagem.^{39,60} Estas técnicas podem ser aplicadas sozinhas ou em conjunto de modo a otimizar o processo de secagem,⁶¹ no entanto requerem o uso de equipamentos especializados e caros, sendo dificultada a sua utilização em cervejeiras pequenas como a Essência D'alma.

1.6 Aplicações dos subprodutos da indústria cervejeira

A partir da composição química dos subprodutos cervejeiros, BSG, BSY e *trub*, rica em fibras e proteínas é possível aferir que apresentam um elevado poder nutritivo. E com a sua estabilização através da secagem torna-se viável a sua incorporação em alimentos ou a transformação destes em diferentes produtos de valor acrescentado, e assim garantir uma reutilização sustentável dos seus recursos biológicos.³⁹

1.6.1 Substrato no cultivo de microrganismos e produção de enzimas

A dreche pode ser utilizada como substrato no cultivo de inúmeros microrganismos, como fungos *Pleurotus*, *Agrocybe*, *Lentinus*, *Aspergillus* e *Trichoderma* e bactérias *Bacillus* e *Streptomyces*, assim como o uso da levedura excedentária no cultivo de espécies do género *Lactobacillus*. O favorecimento do crescimento destes é devido ao alto teor de aminoácidos, vitaminas, minerais e antioxidantes, propriedades físicas (como

tamanho de partícula), densidade específica, porosidade e capacidade de retenção da água que a dreche e a levedura excedentária contêm.^{30,42}

Também tem sido estudado, a partir do cultivo de microrganismos com dreche, a produção de enzimas na fermentação de estado sólido (Koji). Enzimas essas como xilanases produzidas por *Aspergillus awamori* e *Streptomyces avermitilis*, proteases (com fornecimento adicional de azoto) por *Aspergillus awamori*, α -amilase por *Bacillus subtilis*, *Bacillus Licheniformis* e *Aspergillus oryzae*, feruloil esterase por *Streptomyces avermitilis* e celulase por *Trichoderma reesei*, pois a dreche é uma fonte de azoto e energia adequada que tem melhorado o rendimento das enzimas produzidas.^{30,42}

1.6.2 Produtos de valor acrescentado

Na hidrólise da dreche (feita por processos hidrotérmicos, enzimáticos ou ácidos), a celulose origina glucose enquanto que as arabinoxilanas dão origem a xilose, arabinose, ácido glucurónico e galactose residual, como também ácido acético, ferúlico e *p*-cumárico. Além disso, uma grande variedade de arabinoxilo-oligossacarídeos com diferentes características estruturais pode ser obtida de acordo com o processo de hidrólise utilizado.⁴² Os compostos obtidos pela hidrólise da dreche podem ser purificados, como é o caso da extração de proteínas, uma vez que servem como agentes emulsionantes, ou utilizados como fonte de nutrientes (as vitaminas e minerais) para o meio de fermentação de microrganismos.⁶² Através destas fermentações produtos de valor acrescentado são produzidos como por exemplo, a produção de ácido láctico, precursor para a produção do ácido poli-láctico (polímero de elevada resistência e biodegradável) por *Lactobacillus*, produção de xilitol (utilizado como adoçante em variadas aplicações na indústria alimentar ou em produtos de higiene e cosmética) por *Candida guilliermondii*³⁰ e arabitol, etanol e glicerol por *Debaryomyces hansenii*.⁴² Os ácidos hidroxicinâmicos ligados covalentemente às arabinoxilanas e a lenhina também podem ser recuperados (por extração sólido-líquido) e uma vez que são compostos fenólicos bioativos com atividade antioxidante têm aplicações na indústria alimentar, e farmacêutica, sendo uma alternativa natural e barata aos antioxidantes sintéticos.⁶³

Para a levedura excedentária vários compostos de interesse industrial podem ser isolados, como enzimas, proteínas, vitaminas, aminoácidos, citocromos, os componentes de purinas de DNA e RNA, entre outros. As proteínas (com ação antimicrobiana e antioxidante) e aminoácidos, por exemplo, podem ser recuperados através de processos como autólise, plasmólise em solvente orgânico não polar, hidrólise enzimática e ácida ou decomposição hidrotérmica. As β -glucanas, também podem ser extraídas da levedura excedentária, tendo potencial para melhorar as propriedades funcionais dos alimentos, sendo utilizadas como agente espessante, retentores de água, estabilizantes emulsificantes, e também como ingrediente aos alimentos à base de amido para restringir a retrogradação do amido.⁴²

No caso do *hot trub*, compostos como mono- e poli- ssacarídeos e ácidos orgânicos podem ser recuperados após a oxidação ou hidrólise deste material. Os ácidos do lúpulo usado têm potencial como antimicrobiano natural, sendo uma alternativa segura para controlar a contaminação de bactérias em fermentações de etanol, em doses a partir de 5 mg/L, podem ser utilizados como auxiliares na limpeza de cubas e tubulações nas fabricas e como agentes preventivos contra a formação de novas bactérias na forma de biofilmes.⁴² Também é possível extrair do lúpulo usado polissacarídeos pécnicos de massa molecular elevada, que mostraram ter uma viscosidade intrínseca comparável à das pectinas de maçã e citrinos disponíveis no mercado, podendo ser um bom agente gelificante e espessante na indústria alimentar.⁴⁶

1.6.3 Suporte ou aditivo no processo de produção de cerveja

Para além do uso como substrato em processos fermentativos, a dreche também pode ser utilizada como suporte para a imobilização da levedura *Saccharomyces uvarum*. Esta deve ser pré-tratada com soluções de HCl e NaOH para obter um suporte à base de celulose que, devido à sua forma irregular e composição química não homogénea, forneça “sítios ativos” que são rapidamente colonizados pela levedura. Esta é considerada uma alternativa promissora para a imobilização de leveduras quando comparada com outros suportes. Do ponto de vista económico também apresenta as suas vantagens, devido à fácil preparação, reutilização, disponibilidade e à sua natureza inerte e não tóxica. A

dreche também pode ser utilizada para imobilização celular noutros processos biotecnológicos, como a produção de pectinase por *Kluyveromyces marxianus* CCT 3172.^{30,42} Para além destas aplicações, a adição do licor de dreche, como extrato concentrado/prensado e neutralizado, ao mosto melhora o desempenho da levedura e atua como agente anti-espuma no fermentador, não alterando a qualidade da cerveja final.⁶⁴

O resíduo de lúpulo líquido (*trub*) quando adicionado ao meio fermentativo também aumenta a vitalidade e o rendimento da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, bem como o desempenho da sua fermentação e quanto mais lúpulo for adicionado maior o efeito, no entanto a sua adição não deve ser muito elevada devido ao sabor amargo que confere na cerveja. Este efeito está associado a vários componentes do *hot trub*, como por exemplo lípidos e zinco. Embora alguns autores enfatizem a importância nutritiva dos lípidos e particularmente dos ácidos gordos insaturados de cadeia longa, outros acreditam que o zinco pode ser o componente mais eficaz do *trub*.⁴²

1.6.4 Alimentação humana e animal

Uma das formas de reutilização dos subprodutos cervejeiros pode ser através da sua incorporação em produtos alimentares humanos e animais. Esta incorporação pode ser feita diretamente, como complemento nutricional, ou indiretamente, através da recuperação de compostos de interesse seguida da sua inclusão nos produtos alimentares.⁶³ A dreche tem sido avaliada na produção de produtos de panificação (como pães, biscoitos, snacks, panquecas, bolos e waffles)³⁰ e produtos à base de carne (como salsichas).⁶³ A sua incorporação nestes produtos em quantidades de 5 a 10 % aumenta o conteúdo de fibras, proteínas, aminoácidos essenciais e diminui teor de gordura, melhorando o seu valor nutricional,⁶³ contudo por ser demasiado granulada, normalmente é convertida em farinha antes da sua utilização, e por se tratar de uma matéria tipicamente escura, tem sido aplicada a alimentos originalmente escuros. Existe limitação da quantidade de incorporação da dreche devido a alterações de sabor (provocadas a temperaturas de 100 e 105 °C por reações *Maillard* entre açúcares e aminoácidos)⁶⁵ e propriedades físicas (principalmente textura).³⁰

Esta também é um excelente ingrediente para os ruminantes (gado leiteiro), mostrando o aumento do peso corporal e do teor de sólidos total do leite, sem afetar a fertilidade do animal ⁶⁶ e o seu consumo para outros animais está a ser estudado, como galinhas, porcos, peixes, ratos e hamsters. A dreche, devido à grande quantidade de fibras insolúveis (~97 %) provoca um aumento do peso fecal, do trânsito intestinal e da excreção do colesterol podendo prevenir doenças gastrointestinais, diabetes, doenças cardíacas e cancro, quer em humanos como em animais.⁶⁷

Quando comparado com a dreche, a levedura excedentária, para um grau de humidade idêntico, tem um teor muito maior de proteínas, vitaminas e aminoácidos (como lisina),²⁹ pelo que tem sido utilizada como fonte de proteína adicional após a secagem para fornecer aos animais todos os aminoácidos essenciais.³⁰ A levedura excedentária é utilizada em sopas, molhos, ensopados e conservas, como ingrediente alimentar produzido a partir da hidrólise de células de levedura usando enzimas endógenas e exógenas.²⁹ No entanto, a inclusão de levedura em produtos alimentares também é limitada, pela quantidade de ácido ribonucleico (RNA). Nos humanos o RNA é metabolizado em quantidades de ácido úrico capazes de levar ao aparecimento de inflamações nas articulações ou outros efeitos toxicológicos, devendo ser efetuada a sua remoção.²⁹

O lúpulo gasto também pode ser adicionado á dreche como suplemento alimentar na ração animal de ruminantes, numa proporção de aproximadamente 5 % de lúpulo usado para 95 % de dreche. A quantidade de lúpulo residual adicionada não pode ser muito alta porque compromete a qualidade da mistura devido aos efeitos colaterais sedativos e hipnóticos do produto da oxidação/degradação dos ácidos amargos ou β -ácidos (2-metil-3-buten-2-ol), representado na **Figura 15**, podendo levar à rejeição por parte do animal, sendo assim necessário a remoção destes produtos através de fungos selecionados ou leveduras como *Candida parapsilosis* ⁴² ou até por extração com etanol ou metanol e acetona.⁶⁸ Ainda são necessárias pesquisas adicionais para melhorar a qualidade (aparência, textura e sabor) do produto final e avaliar a aceitação do consumidor.⁶³

1.6.5 Outras aplicações

O uso da dreche (BSG) e BSY podem ser alternativas de adsorção de baixo custo para remover corantes (ácido de laranja 7 (AO7)) e metais pesados (cobre, cádmio, crómio e chumbo) de efluentes industriais (indústria têxtil e de papel), diminuindo assim os problemas ambientais.³⁰ Por exemplo, a dreche tem uma capacidade de adsorção é similar à do carvão de casca de côco para a remoção de compostos voláteis orgânicos (VOCs) de resíduos gasosos.³⁰

O reduzido teor de cinzas na dreche e a elevada quantidade de material fibroso tornam-na adequada para ser usada na fabricação de materiais de construção de modo aumentar a porosidade (maior capacidade de adsorção), capacidade de isolamento térmico e diminuição do peso destes, não influenciando na cor nem comprometendo a qualidade destes, sendo um potencial substituto a outros produtos (como serradura).³⁰

Na indústria do papel, a dreche depois de hidrolisada tem sido usada como matéria-prima para polpas de celulose branqueadas que podem ser usadas na produção de certos tipos de papel como toalhas de papel e cartões.³⁰ Também o lúpulo residual pode ser utilizado na fabricação de cartão e as suas resinas podem ser usadas como ligante ou extraídas com acetona para obter óleos essenciais (terpenos) para tintas.²⁹ Tanto a dreche como o lúpulo gasto podem ser usados, em alguns casos, como fertilizante do solo, devido aos seus altos teores de azoto. O lúpulo gasto também pode ser usado para inseticida contra as espécies *Rhizopertha dominica* e *Sitophilus granarius*, para proteger alimentos armazenados (como a dreche) devido ser uma fonte de β -mirceno e α -humuleno com atividade repelente.⁴⁷

Há o desenvolvimento de um processo que separa a dreche em duas fracções, a de proteínas e a de fibras, o extrato rico em fibras e pobre em proteínas pode ser usado na produção sustentável de energia térmica ou biogás (uma mistura de 60 -70 % metano, dióxido e monóxido de carbono, hidrogénio e azoto) por fermentação anaeróbica. O material fibroso da dreche (lenhina, celulose e arabinoxilanas) inicialmente tem de passar por pré-tratamentos químicos, enzimáticos e físicos para extrair açúcares fermentáveis. Após isso os microrganismos acidogénicos convertem estes em ácidos gordos voláteis,

acetato, butirato e propionato, e subsequentemente, as bactérias metanogénicas convertem estes ácidos voláteis em metano.³⁰ Nos Estados Unidos o lúpulo gasto também foi usado como combustível.²⁹

1.7 Objetivos da dissertação em ambiente empresarial

A realização do estágio curricular é uma componente do plano de estudos do 2º ano do Mestrado de Biotecnologia, com especialização no ramo industrial e ambiental.

O trabalho aqui descrito sobre estágio curricular tem dois objetivos principais, sendo que o primeiro objetivo passa pela compreensão da dinâmica laboral da empresa Essência D'Alma, Lda e integração no ambiente de trabalho como membro ativo da equipa, processamento da cerveja, análises sensoriais, controlo de qualidade, limpeza dos equipamentos e instalações. Numa segunda fase o objetivo passa pelo desenvolvimento de estratégias de estabilização dos subprodutos cervejeiros através da sua documentação e realização na empresa de modo a que haja valorização e interligação com outras empresas.

2 Materiais e métodos

2.1 Preparação e caracterização das amostras

As amostras de dreche foram recolhidas na empresa Essência D'Alma para a análise de perda de massa, nos dias 23 de Outubro de 2019 (primeiro teste), proveniente da fabricação de um mosto de vadia loira (essencialmente com malte *Pilsner*), a 20 de novembro de 2019 (segundo teste) de uma produção de vadia trigo e a 28 de janeiro de 2020 de uma produção de vadia loira. Ao longo da secagem foram retiradas amostras menores para a análise do teor de humidade. Também no dia 20 de novembro de 2019 foi recolhido outro subproduto, o lúpulo residual (*hot trub*) e no dia 28 de janeiro de 2020 recolhido também amostras do licor concentrado proveniente da prensagem da dreche (BSG) e foram congeladas até à data de análise. A recolha de levedura excedentária de uma produção de loira e de trigo foi efetuada no dia 27 de janeiro de 2020 e armazenada no frigorífico.

A dreche apresentava uma massa inicial de 11,80 kg para a primeira prensagem e 360 g para a primeira secagem em cima do pasteurizador e na segunda prensagem uma massa inicial de 7,04 kg. Na segunda prensagem -foi adicionado lúpulo residual (*hot trub*) a 5,28 kg de dreche na prensa e na segunda secagem em cima do pasteurizador a mistura da dreche com o *hot trub* apresentava uma massa inicial de 480 g. Os processos estão representados na **Figura 23** e esquematizados nas **Tabelas 4 e 5**. No dia 28 de janeiro, quando terminou os testes da prensagem, foi retirada a dreche prensada para 3 sacos transparentes com massas compreendidas entre os 0,99 kg e 1,16 kg. Esta foi comprimida ao máximo e os sacos foram fechados com um nó para que não existisse ar dentro do saco, de modo a evitar a circulação do oxigénio na dreche molhada, atrasando assim o crescimento de microrganismos menos favoráveis.⁴⁸



Figura 19. Disposição da dreche nos dois processos de secagem. À esquerda a dreche numa prensa e á direita a dreche colocada sobre uma rede e grade.

2.2 Secagem fracionada por pressão

Na secagem dos subprodutos cervejeiros aplicou-se a técnica de secagem fracionada por pressão que consiste na remoção inicial de água com o auxílio de uma prensa seguida do processo de secagem. Neste caso foram efetuados dois tipos de secagem: a secagem com uma fonte de calor e a secagem ao ar livre.

2.2.1 Prensagem de subprodutos

A dreche foi inicialmente desidratada com o auxílio de uma prensa com 13,43 kg de peso e de 25,5 cm de diâmetro, representada na **Figura 23** (esquerda) e **24**, que atualmente não é utilizada pela fábrica (utilizada na prensagem de maçã e pêra para a realização de cervejas especiais com frutos) permitindo assim a sua reutilização. Na primeira prensagem a dreche permaneceu cerca de dois dias na prensa e na segunda prensagem, como a maior perda de água da dreche acontece no momento a seguir à prensagem, esta permaneceu apenas uma noite, já no caso da prensagem antes da secagem ao ar livre (quarta prensagem) a dreche foi retirada logo depois de ter sido prensada. A sequência das prensagens está representada na **Tabela 4**.

Após a segunda prensagem da dreche foi realizada a adição do lúpulo usado (*hot trub*) no topo da prensa. Depois desta adição, a dreche foi novamente prensada, desta vez juntamente com o *hot trub*, para que também possa ser removida parte da água através desta técnica (**Figura 24**). A quantificação do *hot trub*, em litros, adicionado à dreche na prensa baseou-se na multiplicação do volume pela altura. Este foi retirado por duas vezes para um recipiente cilíndrico, com o auxílio de uma fita métrica mediu-se o raio e a altura máxima do *hot trub* no recipiente. Recorrendo à fórmula matemática $V = \pi \cdot r^2 \cdot h$ calculou-se o volume, onde r corresponde ao raio do recipiente e h corresponde à altura do *hot trub*.



Figura 20. Vista de cima do equipamento antes (à esquerda) e após (à direita) a remoção de água com a prensa da mistura de dreche e hot trub.

À semelhança do processo utilizado para a dreche, na remoção da maior parte de água, inicialmente tentou-se também remover parte do líquido (cerveja) através da prensagem.

Depois da recolha das leveduras excedentárias mortas do fundo das cubas estas foram prensadas com o auxílio de um pano, papel filtro e da prensa utilizada na dreche.

2.2.2 Secagem de subprodutos

2.2.2.1 Secagem da dreche e da mistura de dreche com *hot trub*

A secagem com o auxílio do pasteurizador como fonte de calor, foi realizada duas vezes, em que na primeira, efetivada desde o dia 23 de outubro a 19 de novembro de 2019 (ao longo de 27 dias) apenas foi utilizada a dreche. Num segundo ensaio de secagem, (monitorizado ao longo de 28 dias) realizado desde 20 de novembro a 17 de dezembro de 2019, foi utilizada uma mistura de dreche e *hot trub* (**Tabela 5**). Para além disto, também foi realizada outra secagem só que desta vez a secagem foi executada ao ar livre. Esta foi executada também duas vezes, o primeiro ensaio foi desde 2 até 5 de fevereiro de 2020 e o segundo ensaio desde o dia 24 até ao dia 27 de março de 2020, ambos com duração de 4 dias. A massa dos subprodutos foi registada ao longo do tempo e procedeu-se à recolha de amostras, que foram congeladas para posterior análise laboratorial do teor de humidade.

Após a prensagem, uma porção da dreche (360 g) foi retirada do fundo da prensa, para a primeira secagem, e uma porção da mistura de dreche e *hot trub* (480 g) foi retirada da parte de cima da prensa (local onde se encontrava o *hot trub* adicionado), para a segunda secagem. Posteriormente a porção de dreche espremida pela prensa foi espalhada, com altura de aproximadamente 1 cm, ao longo de uma rede (para segurar a dreche) e foi colocada em cima de uma grade de 440 g dentro de um tabuleiro de plástico de 802 g, totalizando 1,24 kg para este material, representado na **Figura 23** à direita. Este material foi colocado então em cima do pasteurizador. O tabuleiro serviu para armazenar a possível água caída da dreche durante a secagem, evitando assim que esta se espalhe pelo pasteurizador, mas neste caso como a dreche já tinha sido prensada, a perda de água foi pouco significativa, evaporando-se.

O tabuleiro com a dreche situou-se em cima do pasteurizador na parte do meio, onde também os trabalhadores da Essência D'alma costumam secar os sapatos, panos e balanças. A fonte de calor externa neste caso foi o pasteurizador, onde normalmente pode

atingir temperaturas acima da temperatura ambiente, facilitando assim a secagem desta, mas não superiores a 60 °C, preservando também a sua qualidade nutricional.³⁰ O ar passa através da massa de grãos devido à diferença de pressão produzida pela diferença de temperatura entre o ar de secagem e o ar ambiente (convecção natural).⁵¹

Numa segunda fase, a dreche proveniente da prensagem do dia 28 de janeiro de 2020 foi armazenada no frigorífico durante 5 dias (primeiro ensaio) e durante aproximadamente 2 meses (segundo ensaio). Em vez de ter sido colocada em cima do pasteurizador, a dreche foi colocada num tabuleiro de aço com uma película de plástico por cima (**Figura 25**), para aumentar mais o efeito de estufa, num local com bastante exposição solar onde foram realizados furos nas beiras da película de plástico para passar o ar e estar mais arejado (convecção natural), de modo a que a sua secagem seja feita até um teor de humidade que não comprometa a sua qualidade (abaixo dos 16%).³³ Para o primeiro ensaio a dreche foi colocada ao sol nas temperaturas de maior calor (das 11h às 15h30) e foi remexida ao longo dos dias. Durante a noite e nas horas de menor calor esta foi retirada para o interior de casa, as temperaturas máximas nesses dias variaram entre 19 e 21°C com céu limpo. Aquando a sua monitorização procedeu-se à recolha das amostras nos dias 3,4 e 5 de fevereiro de 2020, que foram congeladas, para análise posterior do teor de humidade no laboratório. Num segundo ensaio, a dreche foi colocada em dias de céu limpo a nublado com temperaturas máximas de 16 a 22°C, tal como no primeiro esta foi remexida, mas foi deixada durante mais horas lá fora, até às 19h no primeiro dia e nos dois últimos dias foi deixada lá fora e não foi recolhida para dentro por causa do cheiro forte a mofo.



Figura 21. Dreche colocada num tabuleiro ao sol nos dias 4 e 5 de fevereiro na esquerda e direita respetivamente.

2.2.2.2 Secagem da levedura excedentária

Outra ideia de secagem surgiu da leitura de documentos sobre um tipo de leveduras específicas, as leveduras *Kveik* que são encontradas em regiões da Noruega onde a maioria pertence à espécie de *Saccharomyces cerevisiae*, são inoculadas no mosto entre 28 a 40 °C e têm a capacidade de fermentar por volta dos 25 a 30 °C, podem ser armazenadas secas à temperatura ambiente por longos períodos de tempo (1 ano ou mais) e facilmente reutilizadas em novas produções.⁶⁹ O armazenamento na forma seca permite que a levedura sobreviva por mais tempo do que se for mantido como uma pasta húmida e pode ajudar a impedir o estabelecimento de contaminantes,⁷⁰ como referido anteriormente. Tradicionalmente, os noruegueses secavam estas leveduras com um “anel de *Kveik*”, que é feito de blocos de madeira amarrados e pendurado em fermentadores abertos, onde este é mergulhado na cerveja depois da fermentação, retirado e deixado secar. Na fermentação de uma nova cerveja o anel seco pode ser solto e mergulhado no mosto, onde a levedura irá reidratar e fermentar essa cerveja.⁷⁰ Outras técnicas de secagem de leveduras estão implementadas em algumas indústrias, como a utilização de ar forçado (ventoinhas), aquecimento (fornos) durante 12 h-24 h à temperatura de cerca de 30 °C,⁷¹ ou até mesmo ao sol, com a levedura por cima de um papel vegetal. À semelhança das leveduras *Kveik* foi realizada uma experiência com as leveduras excedentárias utilizadas na fábrica Essência d'alma, onde inicialmente se deixou sedimentar as leveduras ao longo do tempo (cerca de 72 h para a levedura de cerveja trigo) e após isso experimentou-se para a levedura excedentária da produção de uma cerveja de trigo e loira, respetivamente a secagem no forno e a secagem com ar quente forçado (secador de cabelo) durante 5 minutos seguida de ao ar livre.

A levedura excedentária já morta proveniente da purga de cervejas vadia trigo e loira foi colocada em frascos, nomeadamente em 2 frascos de vidro com 6,5 cm de diâmetro para a levedura de cerveja loira e em meio frasco com 7,0 cm de diâmetro para a levedura de vadia loira depois de prensar e num frasco de vidro pequeno com 7,0 cm de diâmetro para a levedura de cerveja trigo, isto pode-se ver na **Figura 26**. Após isso foram colocados no frigorífico no dia 27 de janeiro de 2020 à temperatura de 8,8-8,9 °C e deixou-se sedimentar até ao dia 30 de janeiro (durante 3 dias) a levedura de cerveja trigo

e nesse mesmo dia colocou-se as leveduras da cerveja loira na arca a -23°C durante 13 dias (desde o dia 30 de janeiro até ao dia 12 de fevereiro de 2020) onde também sedimentaram. Posteriormente foi feita a medição do brix, turbidez, pH e analisada a separação de fases.



Figura 22. Levedura excedentária de cerveja loira e trigo colocada nos frascos antes de se colocar no frigorífico a $8,8^{\circ}\text{C}$.

Após a sedimentação da levedura excedentária de cerveja trigo, no dia 30 de janeiro foi decantado cerca 103,9 mL de líquido (cerveja) e deixado no fundo do pote a levedura, cerca de 88,5 mL. Esta levedura foi assentada sobre um papel de alumínio posto em cima de um tabuleiro e colocada no forno ⁷¹ a 140°C durante 30 minutos (**Figura 27** esquerda), para a sua secagem e depois foi recolhida para a análise do teor de humidade. Já a levedura excedentária da cerveja loira foi retirada da arca no dia 12 de fevereiro e colocado cerca de 444,63 mL de levedura (deste então presente no frasco de vidro) por cima de um papel vegetal sobre uma grade (**Figura 27** direita) e durante 5 minutos secou-se com um secador de cabelo a ar quente onde se deixou depois no interior das instalações sem estar tapado.



Figura 23. Levedura excedentária antes de ser colocada no forno (à esquerda) e levedura excedentária antes de ser seca com o secador (à direita).

Passados 2 dias da levedura excedentária no papel de filtro estar no interior das instalações a secar ao ar (dia 14 de fevereiro) colocou-se esta ao ar livre e retirou-se para o interior durante a noite, no dia seguinte repetiu-se o mesmo procedimento, no dia 16 de fevereiro recolheu-se a levedura e preservou-se na arca para análise do teor de humidade. Nesses dias o tempo estava nublado e as temperaturas máximas registadas foram de 17 °C.

2.3 Determinação da perda de massa e do teor de humidade

A determinação da perda de massa durante a secagem fracionada por pressão nas instalações fabris foi efetuada com uma balança digital da empresa Essência D'Alma, onde o peso mínimo é de 2 kg e o peso máximo é de 150 kg, com duas casas decimais. As amostras de menores dimensões recolhidas da porção de dreche foram pesadas numa balança digital da empresa Essência D'Alma, onde o peso mínimo de pesagem é 0,002 g e o peso máximo é de 1 kg, com duas casas decimais e conservadas na arca congeladora.

Para a determinação do teor de humidade as amostras recolhidas foram pesadas numa balança da marca KERN, representada na **Figura 28**, que mede automaticamente o teor de humidade em massa seca (DC) ou sólidos totais (TS), aceitando amostras com peso máximo de 60 g e tendo incerteza de 0,001 g, com emissor de vidro quartzo e lâmpada de halogénio de 400 W.⁷² Pesou-se cerca de 4,100 a 2,000 g de cada réplica para pratos de alumínio, tendo sido realizadas três réplicas para cada amostra.

O teor de humidade é medido pela perda de água por secagem e para o calcular é comparado o peso inicial da amostra (peso húmido) com o peso seco. Neste procedimento as amostras de dreche e levedura excedentária são aquecidas pela absorção da radiação infravermelha (radiação térmica) emitida pela lâmpada de halogénio, assim a humidade contida nas amostras evapora e a sua massa conseqüentemente diminui. A perda de massa é registada continuamente no aparelho durante o processo de secagem e o teor de humidade é diretamente exibido de forma contínua no monitor, onde a medição é interrompida automaticamente quando não for detectada mais nenhuma perda de peso. Em combinação com o refletor banhado a ouro este método termogravimétrico garante uma distribuição otimizada e uniforme da radiação térmica sobre toda a superfície da amostra.⁷³

As amostras são aquecidas até uma temperatura de 105 °C (ponto de ebulição da água) e foram deixadas arrefecer até à temperatura de 50 °C para se poder trocar de amostra. Já o tempo de secagem das amostras depende das suas características de absorção, estas dependem principalmente da cor e do material, por exemplo, superfícies lisas e leves geralmente refletem mais radiação infravermelha, portanto, menos energia é absorvida e a amostra menos aquecida.



Figura 24. Balança da marca KERN com o prato da amostra e o vidro com a lâmpada de halogénio que mede o teor de humidade, aberta e em funcionamento.⁷²

A utilização do forno tradicional para determinação de humidade nos subprodutos,⁵⁸ no qual a amostra é aquecida através de convecção e secada durante um longo período de tempo, é o método oficial de perda de massa por secagem. No entanto este método de análise com a lâmpada de halogénio é uma alternativa muito mais rápida e fácil que proporciona resultados de humidade precisos em minutos não necessitando de dispêndio de tantas horas. Esta secagem é um aperfeiçoamento também do método de secagem por infravermelhos (IV) tradicional. Como o elemento de aquecimento é constituído por um tubo de vidro de quartzo preenchido com gás halogénio, a massa desta lâmpada é muito menor quando comparada com a de um radiador infravermelho convencional (arame de metal enrolado a um corpo de cerâmica), o que faz com que a potência máxima de aquecimento possa ser alcançada mais rapidamente (**Figura 29**) e com excelente controlabilidade.⁷³

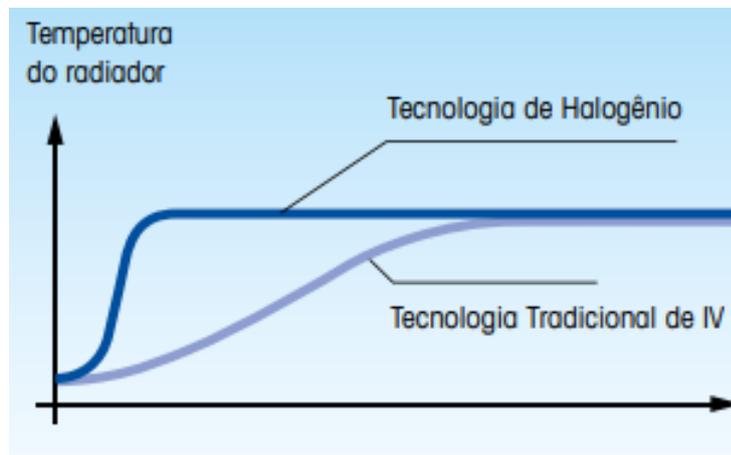


Figura 25. Aumento da temperatura do radiador (elemento de aquecimento) em relação ao tempo de secagem da tecnologia tradicional de IV e da tecnologia de halogénio.⁷³

A medição da percentagem de humidade da dreche seca ao sol e ar livre desde o dia 24 de março até 27 de março de 2020 foi monitorizada pelo aparelho de medição de humidade de madeira e materiais de construção, da marca parkside (**Figura 30**), onde se utilizou o programa de medição de madeira que tem uma amplitude de medição de 6 a 44 % de humidade. Para além destas medições também se mediu a temperatura e a humidade do ar da empresa com o termómetro eletrónico (higrómetro) presente na fábrica Essência D'alma, representado na **Figura 30**, em que este realiza as medições através de um sensor localizado na ponta do fio.



Figura 26. Aparelho de medição de temperatura e humidade do ar nas instalações fabris à esquerda e aparelho de medição do teor de humidade adaptado para a dreche.

2.4 Recolha do licor da dreche

Durante a prensagem de 7,10 kg de dreche no dia 28 de janeiro de 2020, foi recolhido cerca de 2,1 L de um líquido amarelado. Este líquido, que é chamado de licor de dreche, foi primeiramente filtrado com o auxílio de um funil e um pano, durante 10 a 15 minutos, para um balde medidor e no final mediu-se a turbidez, pH e teor de sólidos totais (°Brix) com um potenciómetro e refratómetro respetivamente, *Hanna Instruments*.

O licor de dreche filtrado foi colocado numa panela de 19,5 cm de diâmetro e aquecido até à ebulição ao longo de 1 h. O licor de dreche colocado na panela apresentava um volume inicial de aproximadamente 1,9 L e um volume final de 0,3 L. Ao longo da concentração foi medida a altura e conseqüentemente a variação do volume ao longo do tempo (taxa de evaporação) e foram retiradas amostras de 50-90 mL, cada vez mais concentradas como representadas na **Figura 31**, para análises posteriores de pH, °Brix e análises de açúcares (em que esta última não chegou a ser feita).



Figura 27. Amostras de licor de dreche recolhidas ao longo do tempo.

Para além da prensagem do dia 28 de janeiro, também tinha sido previamente realizada outra prensagem em dreche de uma produção de cerveja Vadia preta no dia 17 de dezembro de 2019, onde se efetuou a recolha do licor a dreche sem a sua filtração. Foi também concentrado de um volume inicial de, aproximadamente 2 L para 100 mL (0,1 L) apresentando uma textura sólida tipo caramelo. No entanto não se efetuou a monitorização ao longo do tempo de evaporação, a porção final também foi recolhida e armazenada na arca. No **Anexo 1** pode-se visualizar a prensagem da dreche de Vadia preta e evaporação do seu licor não filtrado.

3 Resultados e discussão

3.1 Estratégias de Estabilização dos Subprodutos

A valorização dos subprodutos passa por um tratamento de estabilização, de forma a reduzir a atividade de água. Foram testadas duas alternativas sustentáveis para a secagem da dreche e *hot trub* (lúpulo gasto proveniente da decantação), secagem em cima do pasteurizador e secagem ao ar livre, ambas elas passaram por um processo de pré-remoção de água utilizando uma prensa. No caso da levedura excedentária testou-se a sedimentação, prensagem, secagem no forno, ar forçado e ao ar livre. A estabilização dos subprodutos permitirá a sua valorização para vários mercados, desde a venda direta dos subprodutos estáveis a empresas para incorporação como ingrediente e/ou posterior processo extrativo.

3.1.1 Remoção de água com prensa

Este método de estabilização tem por base a técnica utilizada pela maioria das fábricas de cerveja, secagem fracionada por pressão, em que neste caso a dreche é desidratada através de uma prensa contínua de parafusos de diâmetro de 25,5 cm. A tabela de dados com as prensagens é apresentada a seguir (**Tabela 4**), sendo que foram utilizadas 4 amostras de dreche com massas diferentes e após o dia 24, como enunciado anteriormente, os restantes ensaios foram realizados apenas durante um dia. A diferença de massa representa a perda de massa/água que a dreche teve após a prensagem.

Tabela 4. Representação dos dados de massa, altura e diferença de massa da dreche antes e depois da prensagem. A coluna de massa da dreche traduz as massas de partida e após a respetiva prensagem medidas no proprio dia de prensagem.

Prensagem	Dia	Massa da dreche (kg)	Altura da dreche (cm)	Diferença de massa (kg)	Diferença de massa (%)
1ª	23.10.19	11,80	26	-----	-----
		7,21	-----	4,59	38,89
	24.10.19	6,73	13,6	0,48	4,07
			total	5,07	42,96
2ª	20.11.19	7,04	17	-----	-----
		5,28	11,3	1,76	25,00
3ª	17.12.19	5,42	17,3	-----	-----
		3,52	6,5	1,89	34,87
4ª	28.01.20	7,10	21,0	-----	-----
		4,86	9,0	2,24	31,55
			média	2,74	33,60

Para a primeira prensagem, a dreche (11,80 kg de massa inicial) perdeu 4,59 kg no primeiro dia onde o seu peso reduziu cerca de 39% (7,21 kg), representando uma redução de massa até 61,6 % ($7,21/11,80 \times 100$). Após ter permanecido dois dias na prensa, a dreche perdeu pouca água apresentando um peso de 6,73 kg, (cerca de 4 % de perda de massa em relação à última medição), sendo que na totalidade, o ato de prensar reduziu a massa da dreche para cerca de 57 %. A altura da prensa também se reduziu, neste caso para quase metade ($26-13,6=12,4$ cm) $12,4/26 \times 100= 47,7$ %~50 %. Na segunda prensagem houve uma perda de cerca de 25 % (1,76 kg) de massa em relação ao valor de partida (7,04 kg), representando um decréscimo de 75 % ($5,28/7,04 \times 100$) na massa total da dreche, valor menos favorável em relação à primeira prensagem pois perdeu menos água. A altura da prensa reduziu 5,7 cm (17-11,3) representando uma descida de 33,5 % ($5,7/17 \times 100$).

Na terceira e quarta prensagem a dreche perdeu 1,89 kg e 2,24 kg, respetivamente, onde o peso reduziu cerca de 35 % e 32 %, os dados complementares podem-se ver na **Tabela 4**. É de notar que podem ter havido algumas perdas de dreche por esta ter ficado da parte de fora da prensa antes de prensar, e por ter saído fora da prensa através dos seus

orifícios (primeira secagem) ou pela parte de baixo (segunda secagem), mas estas perdas foram mínimas. Quanto às diferenças de altura na prensa, ao final da primeira prensagem houve uma diferença de 48 %, na segunda uma diferença de 34 %, na terceira de 62 % e na quarta de 57 %. Retirando a primeira prensagem, todas as realizadas num dia apenas, mostraram que estes resultados estão em concordância com a perda de massa, ou seja, quanto maior diferença de altura na prensa após cada prensagem maior a perda de água na dreche.

Em média, as várias prensagens (4) realizadas na dreche mostram que houve uma perda de massa de cerca de 34 %, ou seja, a massa remanescente da dreche foi cerca de 66 %. Se a massa perdida for considerada como sendo apenas a água perdida do subproduto e assumindo que a dreche da fábrica possui inicialmente 74,0-77,6 % de humidade,³³ então ao reduzir 34 % da sua massa ou água, a dreche ficou, em média, com 42 % de humidade após prensagem. Sendo assim, este valor está abaixo dos padrões reportados na literatura para a prensagem da dreche, pois o BSG com humidades de 78-80% é desidratado para uma humidade, em média, de 67 %²⁹ e em geral, a prensagem reduz a humidade de dreche para 65 % ou menos.⁵⁸ Por isso o ato de prensar mostrou-se uma técnica bastante favorável na remoção da água livre presente na dreche. No entanto, uma humidade relativa perto dos 50 %, como é o caso (42 %) quer dizer que a atividade de água ou água livre (aw) ainda ronda os 0,80,⁴⁹ sendo a dreche propícia ao crescimento de microorganismos como *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, bactérias halofílicas, bolores xerofílicos e fungos osmofílicos.^{48,50} Por isso a humidade ainda presente está acima da humidade ideal para que o subproduto se possa encontrar microbiologicamente estável e corretamente conservado, para isso é necessário um método de secagem adicional.⁵⁸

3.1.2 Secagem numa superfície quente

Depois da prensagem para reduzir o teor de humidade para valores que permitam a sua estabilização microbiológica, valores inferiores a 16 %, ³³ colocou-se a dreche num local quente (em cima do pasteurizador), uma vez que na pasteurização da cerveja, como pasteurizador atua tipicamente à temperatura de 60 °C,⁸ ainda passa algum calor como

também humidade (causada pelo vapor) para fora do pasteurizador, através do metal que é revestido. Esta experiência foi realizada nos meses de inverno (outubro e novembro) a uma temperatura média do ar de 18,4 °C (relativamente superior à temperatura dentro das instalações fabris durante estes meses) e humidade relativa média do ar de 70,4 %. De modo a interligar-se com a **Tabela 4** segue-se uma tabela das experiências realizadas (prensagem e secagem numa superfície quente) com teor de humidade respetivo (**Tabela 5**), atividade de água estimada com base no teor de humidade, microorganismos que podem crescer nessa atividade de água e observações da textura da dreche e mistura com *hot trub*.

Tabela 5. Tabela com as experiências efetuadas: prensagem e secagem em cima do pasteurizador ao longo do tempo, com o teor de humidade (%), atividade de água (aw), microorganismos presentes e observações.

Experiências realizadas	Dias	% humidade	Atividade água (aw)*	Microorganismos que se podem desenvolver ⁵⁰	Observações	
1º ensaio (dreche)	Prensagem	2	57	0,78-0,83	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , bactérias halofílicas, bolores xerofílicos fungos osmofílicos	Textura granulada com vestígios de cascas e sementes, pouco húmido
	Secagem	2-13	44-42***			Odor azedo, estrutura rígida
		13-27	11-12***	0,25-0,33**	nenhum	Cheiro agradável com crosta, um aspeto seco e duro, estavel e estrutura rígida, textura bastante granulada, estável
2º ensaio (dreche + <i>hot trub</i>)	Prensagem	1	75	0,90-0,99	Todos os microorganismos podem crescer	Aspeto húmido, mistura não homogênea de <i>hot trub</i> e dreche, cor verde e castanha
	Secagem	1-6	75***			0,90-0,99
		13-28	12-14***	0,33-0,43**	nenhum	Cheiro normal, com crosta, um aspeto duro e estrutura rígida, aparecimento de bolores

* estimada teoricamente a partir dos dados da humidade, ** valores estimados muito grosseiramente a partir de isotérmicas de dessecção, *** teores de humidade medidos no laboratório

Os teores de humidade da prensagem considerados foram os da perda de massa com a percentagem inicial de 100%, e para a secagem em cima do pasteurizador (***) recorreu-se à **Tabela 6** com os teores de humidade medidos através de uma balança de laboratório.⁷³ O conhecimento do tipo da isotérmica de sorção não é suficiente para prever a curva, ou seja, para estimar os valores de atividade de água em função da humidade,

para isso são encontrados na literatura vários modelos matemáticos que descrevem as curvas de isotérmicas de sorção/dessorção (modelo de GAB, Oswin, Halsey, Henderson, etc.).⁷⁴ A atividade de água considerada (**) teve por base as isotérmicas de dessorção para grãos de feijão, estimadas pelo o modelo de Halsey modificado, sendo um dos modelos mais indicados para este tipo de alimento, para valores de humidade de equilíbrio abaixo dos 20 % e a temperaturas de 25 °C.⁷⁴ Para os valores acima dos 20 % fez-se uma estimativa grosseira tendo em conta a curva típica de sorção de alimentos de formato sigmoidal (tipo II).⁵¹ Para a previsão de valores de atividade de água mais corretos, teria de se calcular as isotérmicas de sorção específicas para a dreche, através de métodos gravimétricos ou higrométricos, estáticos ou dinâmicos e aplicar-se o modelo mais correto.⁷⁴

Através da **Tabela 5**, pode-se observar que o aspeto visual inicial da mistura de dreche (2ª secagem) apresentava mais humidade que na dreche (1ª secagem), talvez pelo filtro não estar bem limpo ou o malte não estar bem moído. Quando se retirou a dreche da prensa e nos primeiros dias que a mistura de dreche esteve no pasteurizador, tanto na primeira como na segunda secagem, esta apresentou um odor a azedo, mas ao fim de 13 dias em cima do pasteurizador este odor desapareceu e passou a ter um cheiro normal agradável ou sem cheiro. O facto de isto ter acontecido deve-se à redução da maior parte de humidade ficando apenas com cerca de 12 %, o que proporcionou também a redução de água livre abaixo dos 0,60 (0,25-0,43) e a impossibilidade do crescimento de novos bolores e possivelmente de bactérias acéticas ou lácticas que conferem esse odor. No entanto, todo o tempo que esteve antes com o odor desagradável foi o suficiente para correr o risco de se produzirem toxinas por parte dos fungos, sendo necessário que a redução da humidade inicial ocorra de forma mais rápida, como na secagem ao ar livre. Após a secagem a dreche apresentou uma crosta, um aspeto duro e estrutura rígida, o que pode afetar as suas propriedades sensoriais. Para evitar esta textura deveria de se ter remexido de modo a que a transferência de calor passasse uniformemente ao longo de toda a estrutura do grão e não mais na superfície.

Na tentativa de melhorar a qualidade nutricional da dreche e ao mesmo tempo prevenir o aparecimento de fungos e outros microrganismos foi adicionado *hot trub* à

dreche, devido ao seu teor de β -ácidos e terpenos do óleo essencial (mirceno, α -humuleno e β -cariofileno)^{25,42}. O lúpulo gasto (*hot trub*) adicionado foi cerca de 0,53 L ($V = \pi \times 5^2 \times (3,5+3,3) = 534 \text{ cm}^3$), e tendo em conta que o volume da dreche colocado na prensa, na segunda secagem, foi $8,68 \text{ dm}^3$ ($V = \pi \times (25,5/2)^2 \times 17 = 8682 \text{ cm}^3$), a percentagem adicionada de *hot trub* à dreche foi de aproximadamente 6 % ($(534/(8682+534)) \times 100$). No entanto, na parcela de dreche retirada para a secagem em cima do pasteurizador, o *hot trub* como o se concentrava todo na parte de cima, local onde foi retirado, é estimado que esteja a uma quantidade de cerca de 50 % na mistura). Contrariamente ao objetivo pretendido o que aconteceu com a esta mistura foi o surgimento de bolores, como se pode ver na **Figura 32**, o que não ocorreu quando se utilizou só a dreche (primeira secagem). Estes resultados são explicados pelo elevado conteúdo de humidade do *hot trub*, cerca de 3,5 % superior ao da dreche,³⁴ proporcionando ainda mais o desenvolvimento de fungos e bolores, neste caso. Pode-se concluir que o bolor encontrado na dreche foi causado, provavelmente pela adição de *hot trub* em grandes quantidades (~50%), contribuindo para o aumento da humidade da mistura. A adição aconselhada seria 5 % ou menos.⁴²



Figura 28. Mistura de dreche com lúpulo gasto com formação de bolores ao final de 6 dias de secagem.

A variação de massa da dreche foi monitorizada ao longo de 27 a 28 dias (os valores estão apresentados no **Anexo 2, Tabela A1**), sendo que para a segunda secagem (dreche), em relação à primeira (dreche com *hot trub*), os valores de massa foram medidos mais regularmente. A perda de massa por parte dos subprodutos está representada na **Figura 33**.

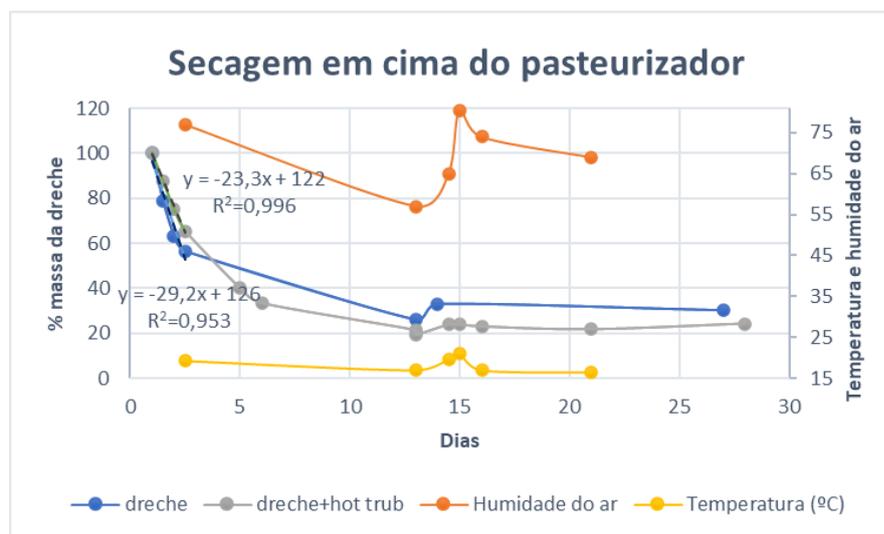


Figura 29. Monitorização da variação da massa da dreche sem e com 50 % de hot trub ao longo da secagem numa superfície quente e dos parâmetros de temperatura e humidade do ar para a dreche mais hot trub.

Analisando a figura 33, é possível observar que a perda de massa por parte da dreche e da mistura de 50 % dreche com 50 % *hot trub* é muito mais acentuada nos primeiros dias de secagem (até ao 2º ou 3º dia), diminuindo a massa da dreche, respetivamente em taxas de 29 % massa por dia e 23 % massa por dia, ou seja, $1,21 \text{ kg.kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ e $0,96 \text{ kg.kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Este momento é caracterizado como período de velocidade de secagem constante, quando o subproduto se adapta às condições de secagem, a sua temperatura é constante e a sua água evapora como água livre. Este período de cinética rápida continua enquanto houver migração de água do interior do subproduto para a superfície deste, suprimindo as perdas por evaporação.^{51,53} Passado uma semana a perda de massa é muito mais lenta, e ao final de duas semanas vai ficando constante, isto pode ser confirmado pelas taxas de perda de massa da dreche a partir do 2º dia até ao final, sendo muito baixas, cerca de 1 % massa/dia, ou seja $0,04 \text{ kg.kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Este fenómeno

deve-se ao facto da já restar uma quantidade muito residual de água livre na dreche, havendo um aumento na resistência interna, sendo que o movimento de água do interior para a superfície da dreche é insuficiente para compensar a água que está a ser evaporada, diminuindo assim a evaporação de água e a velocidade de secagem.^{51,53}

A subida de humidade após 13 dias em ambas as secagens poderá dever-se à subida acentuada, observada na **Figura 33**, da temperatura e humidade do ar nos dias 14 e 15. No entanto estes parâmetros apenas foram medidos ao longo da segunda secagem, na primeira secagem não se sabe se houve ou não uma subida da humidade e temperatura. As cinéticas de secagem encontradas na literatura para a dreche e outros alimentos como sementes, foram cinéticas para a secagem através de microondas a vácuo, secagens no forno/estufa a temperaturas de 60 °C, 70 °C⁷⁵ ou até temperaturas superiores e secagens com recurso a ar forçado com temperatura controlada.⁷⁶ Sendo que estas secagens ocorreram a temperaturas superiores (no mínimo a 35 °C) às registadas nesta experiência, para além disso a maior parte tem duração de algumas horas (12-24 h no máximo) e não de dias. A secagem da dreche com recurso a estas técnicas é mais rápida quando comparado com a cinética utilizada, no entanto há maior dispêndio de energia, por isso é que se recorreu à colocação em cima do pasteurizador, que seca também a dreche sem dispêndio adicional de energia mas com uma duração muito prolongada (próximo de 1 mês). Uma causa para a duração da secagem ter sido prolongada deveu-se ao facto de estar num local com bastante humidade do ar, registado no dia 14, estando a % humidade da dreche muito baixa (11% e 12% segundo a **Tabela 6**), humidade de equilíbrio (teor mínimo de humidade). Nestas condições uma mínima subida da humidade do ar pode gerar uma pequena subida da humidade na dreche, mas esta subida não compromete a sua conservação, pois como já não resta água livre nesta, a água absorvida pelo grão será mínima.

Comparando uma curva com a outra, as duas parecem similares, no entanto a diminuição da % de massa nos 2 primeiros dias para a dreche é mais rápida e há uma estabilização mais rápida (taxas de perda de 1,21 kg. kg⁻¹.h⁻¹), enquanto que a dreche mais o *hot trub* continua a perder massa. Isto acontece pois a massa perdida na prensagem da dreche mais *hot trub* foi muito menor que na prensagem da dreche (primeira

prensagem) (**Tabela 4**) e na secagem da dreche mais *hot trub* a massa da amostra inicial é maior, havendo a presença de *hot trub*, que tem uma humidade superior à da dreche (como referido anteriormente) pode ter aumentado a humidade da mistura. O conjunto destes fatores mostra que a humidade inicial da amostra na segunda secagem foi superior à da primeira secagem e por isso, a descida mais acentuada de massa para a curva na primeira secagem deve-se a esta ter uma humidade inicial menor e assim secar mais rapidamente nos primeiros dias. Há que ter em conta que na primeira secagem, em cada ponto monitorização foi retirada uma amostra, enquanto que na segunda secagem, apenas foram retiradas 3 amostras (no início, a meio e no fim da secagem) para posteriores análises e armazenadas a frio.

Com base na **Figura 33** foi possível fazer uma estimativa do teor de humidade da dreche, pois a perda de massa foi monitorizada em mais pontos que a humidade da dreche. A massa da dreche e da mistura de dreche, **Anexo 2- Tabela A1**, foi reduzida até cerca de 30 % na secagem com dreche e até 24 % na secagem com dreche e *hot trub*, e tendo em conta as prensagens iniciais (**Tabela 4**), a massa da dreche húmida foi reduzida 43 % na primeira prensagem 25 % na segunda prensagem. Assumindo estas percentagens como a massa inicial em vez dos 100 %, e tendo em conta que a humidade inicial da dreche da Essência D'alma é, em média, cerca de 75,8 %, ³³ após a secagem desta numa superfície quente (em cima do pasteurizador) ao longo de 4 semanas faz com que a dreche possua, em média, apenas 11 % de humidade ($30 \times ((75,8-43)/100) = 9,8 \%$ e $24 \times ((75,8-25)/100) = 12,3 \%$), os restantes valores estimados estão na **Tabela 6**. Atendendo a que a sua humidade é inferior a 16 %, fazendo uma estimativa na curva de sorção de alimentos apresentada anteriormente, a dreche terá uma *aw* (atividade de água) inferior a 0,60, este subproduto está então dentro das condições ideais para o não desenvolvimento de microrganismos degradantes e por isso estável microbiologicamente. ³³ É importante referir que não se teve em conta a humidade inicial do *hot trub*, caso contrário a humidade final para a mistura na segunda secagem seria maior. Estes cálculos são confirmados mais à frente pela análise laboratorial do teor de humidade. Tendo em conta a **Tabela A1** do **Anexo 2**, é de notar que ao final de 6 dias, no caso da segunda secagem com a mistura de dreche com *hot trub*, a percentagem de perda de massa na dreche (~33 %) é semelhante

à do 28º dia (~24 %), e ao final de 13 dias na primeira secagem apenas com dreche (~26 %) a percentagem de perda de massa também é semelhante à do último dia de secagem (~30 %), podendo-se estimar que serão apenas necessários 6 a 13 dias para a dreche se encontrar conservada.

As variações de ganho ou perda de massa ocorrem uma vez que nos dias de enchimento o pasteurizador encontra-se ligado e como nem todos os dias há enchimento de cerveja, por vezes o pasteurizador encontra-se desligado. A percentagem de humidade do ar e a temperatura do ar foi medida apenas na segunda secagem (dreche + *hot trub*) durante 28 dias, no anexo 2 (**Tabela A2**) pode-se ver os valores de humidade e temperatura do ar representados na **Figura 33** em cima do pasteurizador.

O pasteurizador normalmente atinge temperaturas acima da temperatura ambiente, no entanto como a dreche está situada em cima deste, a temperatura não vai ser tão elevada e segundo as temperaturas registadas no higrómetro estas foram sempre abaixo dos 25 °C. Isto mostra que o pasteurizador ligado pode provocar um ligeiro aumento de temperatura de 0,5-5 % ($22-17 = 5$ e $17-16,5 = 0,5$), e um aumento da humidade do ar de 8-12 % ($65-57 = 8$ e $77-69 = 8$). Como se pode verificar no **Anexo 2**, em todos os dias em que a perda de massa da dreche é maior (**Tabela A1**), nomeadamente nos dias 5 e 13, o pasteurizador não se encontrava ligado, e nos dias em que esta perda é menor, ou até mesmo quando há ganho de massa (dia 14) o pasteurizador encontrava-se ligado. Ou seja, uma humidade relativa de 65-77 % tem um efeito muito retardador na secagem da dreche, mas uma temperatura cerca de 3,5 °C superior à temperatura ambiente (cerca de 15 °C no inverno) pode ser um parâmetro determinante para uma secagem mais rápida.⁵³ Por isso apesar da colocação da dreche em cima do pasteurizador parecer não ser o mais adequado, por este ser um local húmido (65-77 %) e fazer com que a dreche ganhe humidade, é compensada pelo calor que a superfície apresenta (17-22 °C). Pois apesar destas variações na perda ou ganho de massa, elas mostram-se insignificativas porque o objetivo final, que é diminuir a massa da dreche húmida, é alcançado e com sucesso. Poderá no entanto, também ser equacionado a possibilidade de colocação desta noutra local de menor percentagem de humidade relativa no ar, como por exemplo no exterior ou na sala da caldeira.

3.1.2.1 Medição dos teores de humidade

A medição dos teores de humidade com o auxílio de uma balança com lâmpada de halogénio e quartzo foi efetuada por último, nos dias 17, 19 e 21 de fevereiro de 2020, após a sua conservação na arca congeladora, onde a análise da cada réplica com cerca de 2 a 4 g demorou aproximadamente 30 minutos, em média, sendo que as amostras mais húmidas (superior a 40 %) tinham um tempo de análise até 1 hora.

Para a comparação dos dados estimados do teor de humidade efetuados através da perda de massa e dos medidos no laboratório foi feita uma tabela. A monitorização dos teores de humidade e da percentagem de massa perdida ao longo da primeira e segunda secagem da dreche colocada em cima do pasteurizador (submetida a uma técnica de secagem de uma fonte de ar quente) está representada na **Tabela 6**.

Tabela 6. Teores de humidade e percentagem de massa perdida da dreche seca em cima do pasteurizador ao longo do tempo.

		Dias	% humidade	% variação de massa	% humidade estimada**
1º ensaio (dreche)	Prensagem	0	-----	100	76*
	Secagem	1	-----	57	33
		1,5	44	45	26
		2	42	36	21
		13	11	15	9
		14	12	19	11
2º ensaio (dreche + hot trub)	Prensagem	0	-----	100	76*
	Secagem	1	75	75	51
		13	12	16	11
		28	14	18	12

*valor arredondado da humidade inicial da dreche da Essência D'alma, ** estimada a partir da variação de massa, substituindo os valores de 100 % por 76 % e multiplicando pela massa da dreche no anexo 2. A título de exemplo para o dia 2-1ª secagem: $63,33 * ((76-43)/100) = 21 \%$

A humidade inicial (dia 0) não chegou a ser medida, pelo facto de por ser a amostra que tem mais humidade, não havendo oportunidade de medição posterior, por isso considerou-se que a humidade inicial era cerca de em média 76%.³³ Os valores da variação da massa da dreche ao longo do tempo não foram muito diferentes dos valores

de humidade reais, alguns apenas foram ligeiramente superiores aos valores medidos, com erros de 4 % e 7 % em relação ao real, e teor de humidade ao final de 2 dias na primeira secagem foi 4 % inferior ao valor medido. Apesar disso, é possível ver que nos primeiros dias (1º e 2º dia) de secagem a humidade continuou sempre muito alta, entre 44 a 75 %, mas ao final de 13 dias é vista uma percentagem de humidade muito inferior, entre os 11 e 12 % (abaixo de 20 %). No 14º dia e 28º dia de secagem (após os 13 dias de secagem) a variação do teor de humidade já é residual (1-2 %) encontrando-se a humidade da dreche inferior a 16 %, valor anunciado anteriormente, que corresponderá aproximadamente a uma atividade da água (a_w) de 0,60, que será abaixo do valor que permite o desenvolvimento de bactérias, fungos e outros microrganismos.⁴⁹ Com base nos valores de humidade podemos aferir que a dreche encontra-se estabilizada microbiologicamente ao fim de 13 dias de secagem em cima do pasteurizador.

3.1.3 Sedimentação e secagem da levedura excedentária

Antes da sedimentação das leveduras excedentárias efetuou-se a prensagem das mesmas com papel de filtro e um pano. Verificou-se a utilização destes dificultou a remoção de humidade da levedura excedentária uma vez que o papel rasgou, devido à pressão exercida, e o líquido verteu para o pano. Se se recolhesse uma quantidade de levedura maior e fosse colocada diretamente na prensa talvez este processo fosse mais favorável. Perante o sucedido este ensaio ficou inconclusivo tendo de se optar por outra opção.

As leveduras excedentárias que foram sedimentadas são provenientes a cerveja Vadia trigo, são da espécie de *Saccharomyces cerevisiae*, de fermentação *ale* a temperaturas de 15-20 °C, enquanto que as leveduras excedentárias provenientes a cerveja Vadia loira são da espécie *Saccharomyces pastorianus*, de fermentação *lager* a 6-14 °C.¹⁷ A sua sedimentação ao final de 3 e 13 dias está apresentada na **Figura 34**. A primeira espécie de leveduras, *S. cerevisiae*, é mais semelhante às leveduras do tipo *Kveik* e por isso teve um comportamento mais parecido quando armazenado no frio, já as leveduras da cerveja loira (*S. pastorianus*) não apresentaram sedimentação relevante. O que seria de esperar seria o contrário, visto que no caso da *S. cerevisiae* as proteínas presentes na

parede celular permitem o fenómeno da floculação, tendo tendência a ficar no topo do reator enquanto que a *S. pastorianus* é pobre em proteínas floculantes na sua parede celular e mais hidrofílica depositando-se no fundo do reator.⁴³ Mas como estas leveduras são leveduras excedentárias, ambas já perderam a sua viabilidade, não tendo atividade e estando as duas sedimentadas no fundo do reator. Outra explicação para as leveduras excedentárias *S. cerevisiae* se terem depositado mais rápido que a *S. pastorianus* é que as *S. cerevisiae* foram retiradas no final da purga (consistência líquida) e por isso em menor quantidade e mais rápido se depositam, enquanto que as *S. pastorianus* foram retiradas no início da purga (consistência mais pastosa) e por isso em maior quantidade/volume. Pelo facto da fermentação das leveduras da cerveja loira (*lager*) ocorrer a temperaturas inferiores (6-14 °C) que a das leveduras da espécie *S. cerevisiae*, pensou-se que a sua colocação em temperaturas ainda mais baixas, em relação às que estavam a ser praticadas (8,8 °C), poderia fazer com que a sedimentação ou agregação fosse mais revelante. A colocação destas a temperaturas negativas (-23 °C) favoreceu a sua sedimentação.



Figura 30. Levedura excedentária *S. pastorianus* (de cerveja loira) a 8,8 °C á esquerda (frasco 1, 2 e 3) após 13 dias e *S. cerevisiae* (de cerveja trigo) a -23 °C á direita após 3 dias.

O pH e os sólidos solúveis totais (grau Brix) foram medidos na levedura excedentária onde, no caso da levedura excedentária de cerveja loira, foi medido antes de se dividir a levedura em frascos (suspensão de levedura) e também depois da junção do líquido/ cerveja de todos os frascos (sobrenadante da levedura). A levedura de cerveja de trigo ao início apresentou um pH de 4,13 e um °Brix de 6,4 e da levedura da cerveja loira um pH 4,64 e um °Brix de 6,5, no final da sedimentação o sobrenadante de levedura de cerveja loira tinha um pH de 5,28 e um °Brix de 4,5. O pH entre os dois tipos de levedura

não foram muito diferentes, tendo a levedura excedentária loira um pH ligeiramente superior à de trigo, isto pode ser devido a uma leitura de pH a temperaturas ligeiramente diferentes, ou então pelo facto das espécies de levedura serem diferentes. Na cerveja Vadia loira o °Brix é cerca de 6,8,⁷⁷ e no sobrenadante de levedura *S. pastorianus* (de cerveja loira) proveniente da sedimentação a -23 °C o °Brix é 4,5, devido à diminuição do grau Brix para mais de 2 unidades, esta cerveja não tem muito potencial para ser aproveitada e consumida diretamente, em vez disso poder-se-ia adicionar o líquido na etapa da brassagem ou da fermentação.

Quanto às diferenças de altura entre a fase líquida e pastosa da levedura excedentária dentro do frasco de vidro, o volume do sólido total dentro do frasco, ou seja, a levedura em si na forma pastosa, é maior que o líquido ou cerveja presente no frasco. Os frascos com levedura excedentária de cerveja loira ao final de 3 dias armazenada à temperatura de cerca de 8,8 °C, mais 13 dias a -23 °C representaram, em média, cerca de 57,4 % de fase sólida e 42,4 % de fase líquida, e o frasco com levedura de cerveja de trigo ao final de 3 dias a 8,8 °C apresentou cerca de 54 % de fase sólida e 46 % de fase líquida. A sua exequibilidade na empresa é explicada mais à frente.

Com isto vemos que apesar de ao fim de 13 dias no congelador a separação de fases notar-se nítida e a deposição da levedura ser eficaz, esta deposição ainda poderia ser maior se tivesse durado mais dias. Uma vez que o líquido apresenta menos de 50% e a levedura excedentária possui cerca de 86-90 % de humidade segundo a literatura,²⁰ esta ainda poderia ter depositado mais, sendo a fase sólida menor e a fase líquida maior. A seguir é apresentado na **Tabela 7** os resultados das diferenças de alturas dos frascos da levedura excedentária da cerveja loira e trigo da **Figura 34**, os frascos 1 e 4 (levedura trigo) com 7 cm de diâmetro e dos frascos 2 e 3 com 6,5 cm de diâmetro.

Tabela 7. Alturas do líquido, do sólido e totais nos frascos e as suas percentagens.

	Levedura excedentária	Altura	Volume	% Volume	Média
Líquido	<i>S. pastorianus</i> (1)	4	154	43,5	42,6%
	<i>S. pastorianus</i> (2)	3,5	116	39,8	
	<i>S. pastorianus</i> (3)	2	66	44,4	
	<i>S. cerevisiae</i>	2,3	89	46,0	-----
Sólido	<i>S. pastorianus</i> (1)	5,2	200	56,5	57,4%
	<i>S. pastorianus</i> (2)	5,3	176	60,2	
	<i>S. pastorianus</i> (3)	2,5	83	55,6	
	<i>S. cerevisiae</i>	2,7	104	54,0	-----
				Temperatura (°C)	Observações
Total	<i>S. pastorianus</i> (1)	9,2	354	-23 °C	Pastoso com ar incorporado/ bolhas
	<i>S. pastorianus</i> (2)	8,8	292		
	<i>S. pastorianus</i> (3)	4,5	149		congelado
	<i>S. cerevisiae</i>	5	192	8,8 °C	liquido

A sedimentação da levedura serviu como forma de obtenção de um subproduto com maior teor de sólidos totais, facilitando os passos seguintes de secagem, onde o tempo de deposição e de secagem tem de ser regulado de acordo com o pretendido, dependendo se a técnica de secagem for mais ou menos dispendiosa. No entanto, em termos de exequibilidade na Essência D'alma, esta técnica só será compensadora para as *S. cerevisiae*, neste caso, onde será preferível colocar barris no frio (4-9 °C), pois para a colocação de grandes quantidades de leveduras excedentárias *S. pastorianus* no congelador (-23 °C) há um maior gasto de energia não sendo tão praticável.

A secagem da levedura excedentária *S. cerevisiae*, através do forno foi realizada com uma temperatura superior á encontrada na literatura⁷¹ e num menor tempo (140 °C durante 30 minutos), pois queria-se que a secagem da levedura excedentária fosse realizada em menor tempo possível, para não haver grande dispêndio de energia. Esta técnica mostrou-se eficaz, não apresentou alterações de odor e apresentou um aspeto bastante seco, só que a sua cor modificou-se tendo ficado mais escura, como representado na **Figura 35** à esquerda. Esta mudança de cor deve-se à possível ocorrência de reações de *Maillard* e de caramelização, pois a levedura possui os percursores necessários para que ocorram essas reações, nomeadamente açúcares redutores e aminoácidos. Isto mostra

que a levedura é sensível ao calor e é prejudicada por este, afetando possivelmente a sua qualidade nutricional na utilização na alimentação humana ou na ração animal.



Figura 31. Levedura seca após a secagem no forno à esquerda e após a secagem com secador à direita.

Tal como no forno, na secagem com a utilização de ar forçado, ou seja, um secador de ar quente, durante 5 minutos, a levedura excedentária ficou mais escura e com pontos pretos ou castanhos (**Figura 35** à direita), mas continuou a apresentar bastante humidade, talvez pelo facto de ter estado pouco tempo exposta à corrente de ar quente.

3.1.4 Secagem ao ar livre

Na tentativa de diminuir o tempo de secagem, recorreu-se à colocação de dreche e da levedura excedentária num local com menor percentagem de humidade do ar (~ 60 %), já que em cima do pasteurizador a humidade do ar era muito elevada (70 %). Os subprodutos foram secos depois de armazenados ao frio (até que houvesse dia de maior calor e que não chovesse) para a secagem ao ar livre ser mais eficaz. A dreche foi seca após a prensagem e a levedura excedentária foi seca após a sedimentação.

3.1.4.1 Secagem da dreche

Antes da secagem da dreche ao sol esta já apresentava um odor azedo/fermentado e bolor após 5 dias (primeiro ensaio) e bolor após 2 meses (segundo ensaio, **Figura 36**) de armazenamento no frigorífico, por ter estado bastante dias e relativamente húmida (68,45 % de humidade, **Tabela 4**). Isto acontece pois o frigorífico não impede que os microrganismos se desenvolvam, apenas retarda o desenvolvimento destes, mostrando

mesmo nestas condições ser necessário o uso de conservantes químicos para a sua preservação se o interesse destes for a sua utilização na alimentação humana ou animal.



Figura 32. Dreche com bolor e mau cheiro, no dia 24 de Março de 2020, após de 2 meses armazenada no frigorífico.

Em ambos os ensaios, ao final do primeiro e segundo dia de secagem da dreche ainda não havia diferenças a olho nú significativas quanto à textura e aspecto, em relação à dreche inicial antes da secagem, apresentando água condensada no plástico fino e transparente que a cobria, o que mostra que as zonas perfuradas não foram suficientes para o vapor de água ser libertado para o exterior. Após 4 dias de secagem da dreche ao sol, o plástico já não apresenta condensação de água e o volume desta diminuiu, uma vez que ocupava menos espaço no tabuleiro, pelo que apresentava menos água e aparentava estar mais seca. No segundo ensaio a dreche, por já estar muito comprimida no saco de plástico para não ganhar ar, não foi corretamente esmagada ao colocar-se no tabuleiro e por isso apresentou sempre alguns torrões/grumos, ou aglomerados de dreche, sendo mais demorado o processo para estes secarem e talvez dificultando a medição de humidade.

3.1.4.2 Secagem da levedura excedentária

Já a levedura excedentária, após o segundo dia de secagem ao sol já se observava diferenças na sua humidade, encontrando-se com um aspeto relativamente mais seco em relação ao início da sua secagem e no quarto dia estava ainda mais seca mas não completamente (**Figura 37**), pois partia-se com pouca facilidade, tinha um aspeto poroso

e ainda estava uma consistência mole (cerca de 24 % de humidade). Os resultados da humidade da levedura são discutidos mais à frente.

O papel de filtro, que serviu de suporte para a levedura excedentária, ficou com uma cor amarelada, tendo o líquido presente na levedura excedentária (a cerveja) passado para o papel, representado na **Figura 37**. Outra opção seria substituir este papel por um mais impermeável onde a cerveja não ficaria retida no papel e pingaria para um recipiente colocado por baixo para recolha da cerveja ainda presente.



Figura 33. Papel de filtro com cerveja e levedura excedentária seca após 4 dias.

3.1.4.3 Medição dos teores de humidade

Comparando a secagem de dreche em cima do pasteurizador com a secagem ao sol da dreche podemos observar na **Figura 38** que a taxa de perda de água é muito superior na dreche seca ao sol em relação à dreche seca em cima do pasteurizador, esses valores de teor de humidade estão apresentados na **Tabela 8**. O 1º ensaio foi realizado ao longo do dia 2 a 5 de fevereiro e no dia 21 de março após ter ficado dentro de casa durante 40 dias, a humidade das amostras foi medida nos dias 17 e 19 de fevereiro com o auxílio de uma balança de laboratório com lâmpada de halogénio, onde foi realizada a análise de 3 réplicas de 2 a 4 g de cada amostra e no dia 21 de março foi medida a humidade com um higrómetro calibrado para a madeira. O 2º ensaio foi realizado desde o dia 24 a 27 de março e medido através do mesmo higrómetro com amplitude de medição de 6-44 % de humidade.

Tabela 8. Percentagens de humidade da dreche secada ao sol com os valores da média das réplicas no 1º ensaio medido com uma balança, o valor do último ponto do 1º ensaio (*) e os intervalos de valores medidos no 2º ensaio com o higrómetro calibrado para madeira.

Dias passados	%humidade	
	1º ensaio	2º ensaio
0	-----	-----
1	-----	-----
2	58	32,9-33,4
3	32	15,9-17
4	17	-----
45	11,1*	-----

Os valores medidos com o higrómetro não foram muito conclusivos uma vez que em vários pontos da dreche espalhada no tabuleiro havia diferentes teores de humidades, pode se dever ao facto de estar com alguns aglomerados e não estar completamente espalhada ou desfeita. Para além disso, quando a dreche apresentava valores de humidade menores, esta tinha de estar comprimida para simular uma superfície de madeira, caso contrário o aparelho não conseguia medir corretamente, aparecendo sempre como percentagem zero, como ocorreu ao final do dia 4, onde mesmo estando a dreche comprimida não foi possível efetuar a medição provavelmente porque a dreche apresentava um valor de humidade inferior ao limite de deteção. Com os dados da **Tabela 6 e 8** foi construído o gráfico apresentado na **Figura 38**.

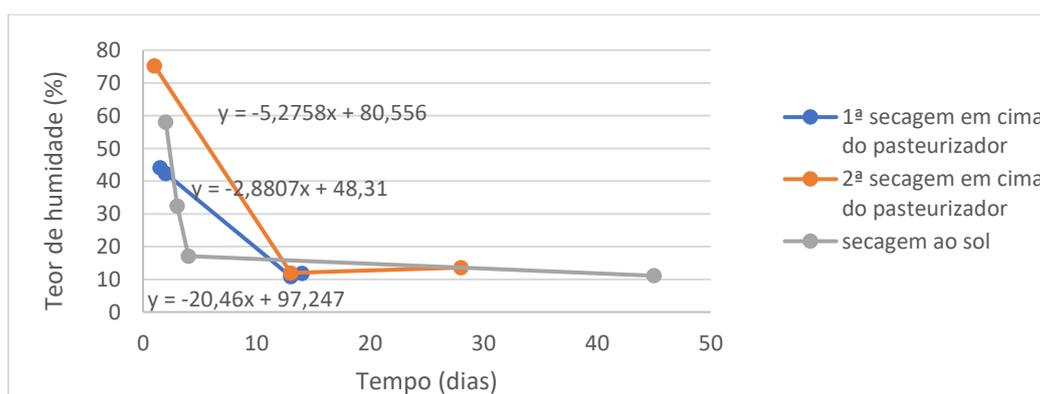


Figura 34. Teores de humidade das secagens da dreche em cima do pasteurizador e ao sol ao longo do tempo.

Com base nos dados gráficos, consegue-se ver que o declive da secagem da dreche ao sol em Fevereiro do 2º dia até ao 4º dia é mais acentuado (-20,46) do que o declive da secagem da dreche na 1ª e 2ª secagem em cima do pasteurizador do dia 1 até ao dia 13 (-2,88 e -5,28, respetivamente). Sendo que ao calcular as taxas para cada uma das secagens, tem-se que para a secagem da dreche ao sol são perdidos cerca de 0,85 mL/hora e para a secagem no pasteurizador são perdidos apenas cerca de 0,22 mL/hora e 0,12 mL/hora (é de notar que as taxas de secagem não foram realizadas todas ao longo dos mesmos dias). Esta afirmação leva a concluir que a secagem da dreche ao sol, com uma camada de 1-2 cm, com temperaturas máximas de 19 °C é mais rápida, sendo por isso mais eficiente em dias de maior calor em relação à secagem desta em cima do pasteurizador, pois ao final de 4 dias já tinha uma humidade de apenas 17 %. Sendo que esta humidade não privilegia o crescimento de microrganismos pois compreende uma aw ligeiramente superior a cerca de 0,60,³³ ou seja, este produto está quase estabilizado.

Quanto à secagem da levedura ao ar livre com temperaturas máximas de 17 °C, esta ao final de 4 dias apenas apresentava cerca de 24 % de humidade, o que é um valor muito favorável pois esta tem uma humidade de cerca de 9 % superior que a dreche.²⁰ Ou seja, se a taxa de secagem fosse igual à da dreche, ao final de 4 dias de secagem a levedura excedentária apresentava 26 % de humidade ($17+9= 26$ %), valor semelhante ao exibido (24 %). E olhando para a taxa de secagem da dreche ao sol, sabe-se que perde cerca de 21 % de humidade por dia, sendo necessário a secagem ao longo de apenas mais um dia para diminuir até uma humidade menor. No entanto, como foram realizados em condições atmosféricas diferentes, para se ter a certeza que a humidade é suficientemente baixa (cerca de 16 % ou menos) teria de se fazer a secagem da levedura excedentária talvez ao longo do dobro dos dias realizados (8 dias). Com isto a secagem ao ar natural seria uma boa opção nos dias de maior calor. Para os dias sem sol (menor temperatura) e com chuva teria de se colocar estes subprodutos num local da fábrica com baixa humidade e ventilado, talvez na sala da caldeira.

3.2 Análise dos sólidos solúveis totais e pH na redução de volume no licor de dreche

Para além da dreche, o licor de prensagem desta também foi recolhido e colocado numa panela com o objetivo de produzir um melaço por evaporação da água. À medida que se ia recolhendo as amostras, no dia 28 de janeiro de 2020, mediu-se a altura do líquido na panela, e com base no raio da panela (9,75 cm) foi possível medir o volume de água evaporado ao longo do tempo. Após a recolha das várias amostras do licor da dreche, em tempos diferentes, ao longo de cerca de 1 h do licor em ebulição e após o arrefecimento no frigorífico, mediu-se o pH e o teor de sólidos totais (°Brix). Estes valores em função do tempo decorrido estão representados no seguinte gráfico da **Figura 39**.

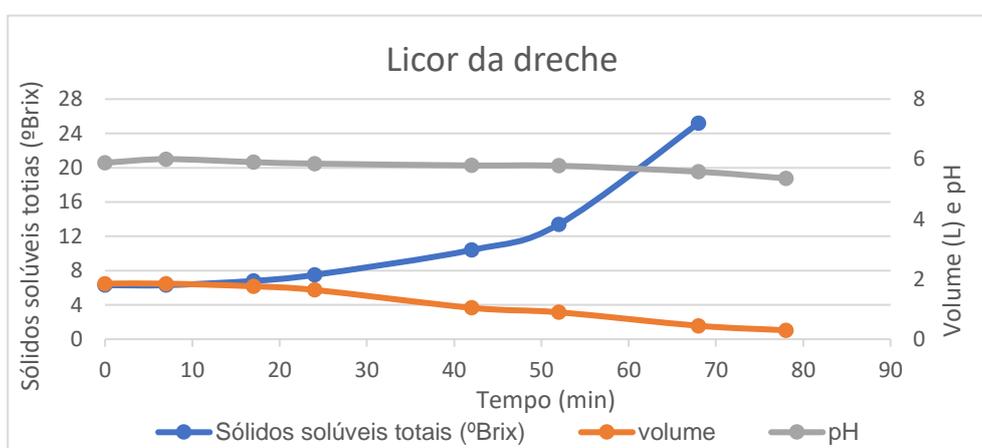


Figura 35. Avaliação dos parâmetros do volume, pH e °Brix do licor da dreche durante o processo de concentração ao longo do tempo em minutos.

Com base nos dados da **Figura 39** é possível medir a taxa de evaporação do líquido (água) presente no licor da dreche, através da regressão linear, pelo declive pode-se ver que evapora-se 0,022 L/min, ou seja 1,32 L/h ($0,022 \times 60$ min), o que mostra um processo relativamente demorado. O volume numa 1h20 reduziu 1,6 L (de 1,9 L para 0,3 L), ou seja, reduziu cerca de 84%, sendo o volume final 16 % do inicial. O pH vai diminuindo de forma constante com a redução do volume, desde 6,00 para 5,36, isto porque os ácidos presentes na dreche (ácido acético, ferúlico e *p*-cumárico ligados covalentemente às arabinoxilanas e a lenhina)⁶³ podem ter sido extraídos para o licor da dreche (através da prensagem devido à elevada força mecânica) e como a concentração foi aumentando esses ácidos orgânicos não voláteis contribuem para a diminuição do pH. Para além disso, ao mesmo tempo que o licor de dreche se foi concentrando a cor foi ficando mais escura,

como se pode observar na **Figura 31**, a viscosidade foi aumentando e os sólidos solúveis foram aumentando de 6,3 para valores aproximados de 50 °Brix, uma vez que o valor do último ponto não representado no gráfico ultrapassou o limite de medição do refratômetro utilizado (50 °Brix), o que quer dizer que o teor de açúcares presentes por volume é maior, o que é expectável uma vez que apenas se está a retirar a água e a concentrar a solução. No final da concentração deste licor de dreche fez-se a análise sensorial e viu-se que era doce, podendo ser usado como melaço para ser incorporado em rações animais ou para produção de etanol por fermentação dos açúcares.²⁹ Sabendo que a Essência D'alma produz cerca de 28 kg de dreche por hL de cerveja³³ e que a perda de massa/água na prensagem da dreche é, em média, 34 % é possível saber que a quantidade de licor de dreche produzida é cerca de 9,52 L por cada hL de cerveja.

3.3 Perspetivas futuras da secagem de subprodutos

Ao introduzir este processo numa escala industrial, uma das possibilidades seria o redirecionamento do *hot trub* para a panela de filtração, tendo em atenção as quantidades adicionadas à dreche se for para utilizar em rações, e a inserção de um sistema de prensa dentro da panela de filtração adequado ao filtro existente.

Após isso o licor de prensagem da dreche poderia ser reciclado dentro da cervejeira, ao ser introduzido no mosto, uma vez que este pode melhorar a qualidade nutricional constituindo uma fonte extra de açúcares. A quantidade e o tipo de monossacarídeos, polissacarídeos e oligossacarídeos (estes últimos podem conferir atividade prebiótica) presentes neste licor teria de ser aferida, teria de se realizar análises laboratoriais utilizando técnicas de análise como a cromatografia em fase gasosa com detetor de ionização de chama (GC-FID), que necessitam de equipamento não disponível na empresa. No entanto, o ato de prensar pode extrair outras substâncias que não são tão favoráveis a este, como por exemplo os sólidos suspensos, que interferem com a clarificação do mosto e reduzem a eficiência da filtração. Estes sólidos contêm açúcares mais complexos como β -glucanas que vão aumentar a viscosidade da cerveja e alterar o processo fermentativo, levando a que a fermentação pelas leveduras da cerveja não seja tão eficaz. Para evitar isso, o licor de prensagem da dreche pode ser canalizado para as

cervejas onde naturalmente são turvas. Ou então, proceder à sua clarificação antes de ser introduzido no mosto, onde os sólidos suspensos devem ser reduzidos por centrifugação ou outro aparelho de clarificação até cerca de 0,2 %.²⁹ De forma a evitar o menor custo de recursos, este líquido em vez de ser adicionado ao mosto poderia ser adicionado apenas em produções de cerveja sem álcool (Vadia 100) que não necessitam de uma fermentação tão eficaz.

Quanto à dreche prensada, duas das utilizações principais e mais rentáveis para a empresa seriam a venda desta para alimentação animal direta, gado leiteiro ou galinhas, ou a sua utilização no interior da fábrica como pellets para alimentação da caldeira, com necessidade de substituir a caldeira a gás/óleo por uma caldeira a pellets. Também esta poderia ser vendida para a sua introdução em bolachas e pão ou como fonte de fibra e nutraceuticos, por exemplo. No esquema do **Anexo 3** é apresentado as várias formas que a dreche pode ser tratada e vendida. No entanto a dreche, normalmente, não pode ser utilizada assim prensada, tem de ser sempre combinada a prensagem com a secagem ao sol ou no interior quando chover, para garantir a sua estabilização e para que a sua utilização posterior seja rentabilizada.

O aconselhável é armazenar a dreche (através da colocação em sacos) nos meses de outono/inverno e nos meses de verão colocá-la a secar ao sol (em bandejas ou em cima de um plástico). Pois nem todos os meses do ano é possível secar os subprodutos em condições naturais, nomeadamente ao sol, ar livre e temperatura ambiente, uma vez que existe meses que chove bastante, sem sol ou que a temperatura está demasiado baixa para que este processo seja rentável. Por isso o armazenamento da dreche nos meses de outono/inverno pode ser feito após a aplicação do sistema de prensagem e consequente adição de *trub* ou de um conservante (como o sorbato de potássio ou ácido benzóico). Posteriormente seria colocada em sacos de plástico preto fechados protegidos do ar. Para evitar este problema de entrada de oxigénio, antes do armazenamento da dreche também se poderia reaproveitar o calor/vapor produzido pelo pasteurizador ou painéis de brassagem para a secagem da dreche após a sua prensagem, construindo-se uma plataforma em cima destes equipamentos para poder levar uma maior quantidade de dreche e reduzir ainda mais o seu teor de humidade ou poder-se-ia proceder à sua

colocação num armazém local arejado para a dreche secar para depois se armazenar seca. Para a secagem ao sol pode-se proceder à construção de uma zona dedicada. Também em vez disso poderá ser construir um silo de aço inox ou então o reaproveitamento da própria esplanada para a colocação da dreche e outros subprodutos.

No caso dos outros subprodutos como o lúpulo usado e levedura excedentária, estes podem ser adicionados à dreche para ração animal para aumentar o valor nutricional desta e parte destes pode ser vendido para a sua introdução em alimentos. Para a conservação de cada um destes individualmente uma opção seria o seu armazenamento na arca fria a 8-9 °C e posteriormente a sua secagem ao sol nos meses mais quentes num processo semelhante ao da dreche. A adição destes com a dreche faz com que o processo de preservação seja semelhante.

As lamas de diatomáceas são outro subproduto gerado na empresa Essência D'alma na etapa da filtração, quando é utilizado o filtro de terras, e estas também podem ser reaproveitadas dentro da fábrica ou secas através de um tratamento térmico a 105°C e 700°C para a remoção da matéria orgânica da cerveja retida nos seus poros, essa remoção exige no entanto equipamentos caros com grande gasto de energia.⁷⁸

4 Conclusão

Vários esforços têm sido tomados para reutilizar os subprodutos agroindustriais, quer do ponto de vista económico como ambiental. A dreche, o lúpulo residual e a levedura são subprodutos importantes que podem ser obtidos a partir da atividade de qualquer indústria cervejeira. Apesar de todas as aplicações descritas, o seu uso continua limitado, sendo praticamente apenas usado como ração animal, ou simplesmente como fertilizante. E é por este motivo, muito importante o contínuo estudo e desenvolvimento de técnicas para o seu aproveitamento e conservação, uma vez que nas microcervejeiras são produzidas poucas quantidades destes subprodutos pelo que não são devidamente valorizados.

Uma das maiores limitações no uso destes subprodutos é a sua rápida deterioração e elevados custos quando se pretende conservar. Este trabalho focou-se na prensagem e

secagem como uma possível alternativa à estabilização dos subprodutos. O uso da técnica secagem fracionada por pressão, com prensagem seguida de secagem em cima do pasteurizador ou secagem ao sol mostrou-se bastante eficaz pelo facto de se ter prensado previamente a dreche e esta ficar com apenas 66 % do seu peso. Mas tem de se ter atenção, no caso da secagem ao sol, à meteorologia, e também à monitorização da humidade em cima do pasteurizador, pois quando se encontra ligado provoca um aumento de humidade da dreche, e esta re-hidrata.

Com estas técnicas consegue-se uma conservação a baixo custo e evita-se a deterioração. O uso de menor quantidade de lúpulo deve ser feito para evitar a formação de cheiro e sabor desagradável no produto final. A introdução de diferentes quantidades da dreche e lúpulo residual na alimentação animal e consequente avaliação/aceitação por parte do animal será um passo importante, uma vez que estes subprodutos produzem elevados benefícios para a saúde. E assim podem ser considerados como opção em relação a outros produtos ricos em fibra e compostos bioativos, cada vez mais valorizados pela sociedade.

É complicado preservar a dreche sem recorrer a aditivos químicos, por isso, tendo em conta a sua aplicação e produção industrial, no sentido de melhorar o processo pode-se justificar o aumento dos custos ou não usando aditivos químicos como pode ser o caso do lúpulo, aumentando a qualidade e até diminuindo o tempo do processo.

Outros benefícios do uso dos subprodutos da atividade cervejeira seriam a criação de co-produtos desta indústria como por exemplo o licor da dreche, pois estes subprodutos deixariam de ser um resíduo para eliminar. Há que considerar também em maior escala a otimização e monitorização dos parâmetros relevantes para o processo, como o pH, o nível de oxigénio, a humidade e o desenvolvimento bacteriano.

5 Bibliografia

1. Kunze W, Manger H-J, Pratt S. *Technology Brewing and Malting*. VLB Berlin, Germany. 2004;3: 1-948.
2. Nelson M. *A History of Beer in Ancient Europe.*; 2005.
<https://scholar.uwindsor.ca/lcpub>.
3. Dados económicos do setor Cervejeiro.
https://www.cervejeirosdeportugal.pt/dados_economicos/. Accessed October 31, 2019.
4. Photiades P. *Beer Statistics. The Brewers of Europe*. 2018;1-32.
5. Consumo de cerveja bate recordes da última década.
<https://www.dinheirovivo.pt/economia/consumo-de-cerveja-bate-recordes-da-ultima-decada/>. Accessed October 31, 2019.
6. Cervejas artesanais crescem cinco vezes mais que a média do mercado.
<https://www.dinheirovivo.pt/economia/cervejas-artesanais-crescem-cinco-vezes-mais-que-a-media-do-mercado/>. Accessed October 31, 2019.
7. Ministérios da Economia e da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. *Portaria n.º 1/96 Diário da República n.º 2*. 1996; 320-321.
8. Eßlinger HM. *Handbook of Brewing : Processes, Technology, Markets*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 2009.
9. Wunderlich S, Back W. Overview of Manufacturing Beer: Ingredients, Processes, and Quality Criteria. In: *Beer in Health and Disease Prevention* (Preedy V.R. ed.). New York: Elsevier. 2009; 3-16.
10. Padinha SPP. Valorização da dreche para desenvolvimento de novos produtos. Dissertação Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Faculdade de Engenharia. 2016.
11. Evers, T. & Millar, S. Cereal Grain Structure and Development Some Implications for Quality. *Journal of Cereal Science*. 2002; 36: 261-284.
12. Simpson BK. *Food Biochemistry an Food Processing*. Wiley-Blackwell. 2012; 2: 1-296
13. Almaguer C, Schönberger C, Gastl M, Arendt EK, Becker T. *Humulus lupulus - a story that begs to be told*. *Journal of the Institute of Brewing*. 2014;120:289-314.
14. Hill AE. *Brewing Microbiology : Managing Microbes, Ensuring Quality and*

- Valorising Waste*. Woodhead, Cambridge. 2015;1: 1-479
15. De Keukeleire D. Fundamentals of beer and hop chemistry. *Quimica Nova*. 2000; 23:108-112.
 16. Faria Oliveira F, Puga S, Ferreira C. Yeast : World 's Finest Chef. In: *Food Industry*, IntechOpen. 2013.
 17. Bamforth CW. Progress in Brewing Science and Beer Production. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*. 2017; 8:161-176.
 18. Alsteens D, Dupres V, Mc Evoy K, Wildling L, Gruber HJ, Dufrêne YF. Structure, cell wall elasticity and polysaccharide properties of living yeast cells, as probed by AFM. *Nanotechnology*. 2008; 19: 1-9
 19. Madigan MT, Martinko JM. *Microbiologia De Brock*. (Pearson, ed.). 2016; 14: 1-1032
 20. Fillaudeau L, Blanpain-Avet P, Daufin G. Water, wastewater and waste management in brewing industries. *Journal of Cleaner Production*. 2006;14:463-471.
 21. Carvalho DO, Gonçalves LM, Guido LF. Overall Antioxidant Properties of Malt and How They Are Influenced by the Individual Constituents of Barley and the Malting Process. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2016;15:927-943.
 22. Ray B. *Fundamentals of Food Biotechnology, Statewide Agricultural Land Use Baseline*. CRC Press. 2015; 3:1-608
 23. Bewley JD. Seed germination and dormancy. *Plant Cell*. 1997;9:1055-1066.
 24. Kourtis LK. Implementation of hazard analysis critical control point (HACCP) system to the non-alcoholic beverage industry. *Food Reviews International*. 2001; 17:451-486.
 25. Willaert R. The beer brewing process: wort production and beer fermentation. In: *Handbook of Food Products*. 2006; 443-506.
 26. Adams M, Moss M. *Food Microbiology*. Cambridge: Royal Society of Chemistry 2007; 3: 1-463
 27. Hagman A, Säll T, Piškur J. Analysis of the yeast short-term Crabtree effect and its origin. *FEBS J*. 2014;281:4805-4814.
 28. Freeman GJ, Mckechnie MT. Filtration and Stabilization of Beers. In: *Fermented Beverage Production*. Springer US; 2003:365-392.

29. Priest FG, Stewart GG. *Handbook of Brewing Second Edition*. CRC Press, Boca Raton (FL, USA). 2006; 2: 1-872
30. Mussatto SI, Dragone G, Roberto IC. Brewers' spent grain: Generation, characteristics and potential applications. *Journal of Cereal Science*. 2006;43:1-14.
31. Linko M, Haikara A, Ritala A, Penttilä M. Recent advances in the malting and brewing industry. *Journal of Biotechnology*. 1998;65:85-98.
32. White JS, Yohannan BK, Walker GM. Bioconversion of brewers spent grains to bioethanol. *FEMS Yeast Research*. 2008; 8: 1175-1184
33. Almeida I. Identificação, quantificação e valorização dos subprodutos produzidos pela atividade cervejeira. Dissertação Universidade de Aveiro, Departamento de Química. 2019.
34. Olajire AA. The brewing industry and environmental challenges. *Journal of Cleaner Production*. 2012;256:1-21
35. Ullmann's. *Ullmann's - Food and Feed, 3 Volume Set*. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Germany. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry 2017; 1: 1-1576
36. The Brewing Process — Aslan Brewing Co. <https://aslanbrewing.com/thebrewingprocess>. Accessed December 31, 2019.
37. Lynch KM, Steffen EJ, Arendt EK. Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. *Journal of the Institute of Brewing*. 2016;122 :553-568.
38. Dervilly, G.; Leclercq, C.; Zimmermann, D.; Roue, C.; Thibault, J. F. & Saulnier, L. Isolation and characterization of high molar mass water-soluble arabinoxylans from barley and barley malt. *Carbohydrate Polymers*. 2002; 47: 143-149.
39. Aliyu S, Bala M. Brewer's spent grain: A review of its potentials and applications. *African Journal of Biotechnology*. 2011;10 :324-331.
40. Waters DM, Jacob F, Titze J, Arendt EK, Zannini E. Fibre, protein and mineral fortification of wheat bread through milled and fermented brewer's spent grain enrichment. *European Food Research and Technology*. 2012; 235 :767-778.
41. Vieira E, Rocha M, Coelho E, Pinto O, Saraiva J, Ferreira I, Coimbra M. Valuation of brewer's spent grain using a fully recyclable integrated process for extraction of proteins and arabinoxylans. *Industrial Crops and Products*. 2014;52:136-143.
42. Mussatto SI. Biotechnological potential of brewing industry by-products. In:

Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation: Utilisation of Agro-Residues. Springer Netherlands 2009; 313-326.

43. Pinto M, Coelho E, Nunes A, Brandão T, Coimbra MA. Valuation of brewers spent yeast polysaccharides: A structural characterization approach. *Carbohydrate Polymers*. 2015;116:215-222.
44. Danenhower TM, Force LJ, Petersen KJ, Betts TA, Baker GA. HPLC analysis of α - and β -acids in hops. *Journal of Chemical Education*. 2008;85: 954-956.
45. Wohlfart R, Wurm G, Hänsel R, Schmidt H. Detection of sedative-hypnotic active ingredients in hops. 5. Degradation of bitter acids to 2-methyl-3-buten-2-ol, a hop constituent with sedative-hypnotic activity. *Archiv der Pharmazie (Weinheim)*. 1983;316 :132-137.
46. Oosterveld A, Voragen AGJ, Schols HA. Characterization of hop pectins shows the presence of an arabinogalactan-protein. *Carbohydrate Polymers*. 2002; 49:407-413.
47. Bedini S, Flamini G, Girardi J, Cosci F, Conti B. Not just for beer: evaluation of spent hops (*Humulus lupulus L.*) as a source of eco-friendly repellents for insect pests of stored foods. *Journal of Pest Science*. 2015;88 :583-592.
48. Chanie D, Fievez V. Review on Preservation and Utilization of Wet Brewery Spent Grain as Concentrate Replacement Feed for Lactating Dairy Cows. *Journal of Animal Health and Production*. 2017;5 :10-13.
49. Labuza TP, Dugan LR. Kinetics of lipid oxidation in foods. *CRC Critical Reviews in Food Technology*. 1971;2 :355-405.
50. Ledward DA. Water activity: Theory and applications to food. *Meat Science*. 1987;21 :157-158.
51. Azeredo H. Fundamentos de Estabilidade de Alimentos - Preservação de Alimentos. *Embrapa Agroindústria tropical*. 2004; 1: 1-195
52. Sodhi HS, Garcha HS, Kiran U. Screening of mycoflora of spent up brewer's grains for aflatoxin production. *Journal of Research Punjab Agricultural University*. 1985;22 :331-336.
53. Silva LC. *Secagem de Grãos. Boletim Técnico: AG*. 2005;4(05)
54. Al-Hadithi AN, Muhsen AA, Yaser AA. A study on the possibility of using some organic acids as preservatives for brewer's by products. *Journal of Agriculture and Water Resources Research (Iraq)*. 1985; 4:229-242
55. Mokapane FM, Fawole OA, Opara UL. Strategies to preserve quality and extend shelf life of dried fruits and vegetables: a review. *VII International Conference*

- on Managing Quality in Chains (MQUIC2017) and II International Symposium on Ornamentals in I201*. 2018;(12 :99-106.
56. Wattiaux M. Introduction to Silage Making. The Babcock Institute University of Wisconsin. *Dairy Updates*. Feeding No. 502.
 57. Aboltins A, Palabinskis J. Research in Brewer's Spent Grain Drying Process. *Engineering for rural development*. 2015; 230-235.
 58. Santos M, Jiménez JJ, Bartolomé B, Gómez-Cordovés C, Del Nozal MJ. Variability of brewer's spent grain within a brewery. *Food Chemistry*. 2003;80 :17-21.
 59. El-Shafey EI, Gameiro MLF, Correia PFM, de Carvalho JMR. Dewatering of Brewer's Spent Grain Using a Membrane Filter Press: A Pilot Plant Study. *Separation Science and Technology*. 2004;39 :3237-3261.
 60. Tang Z, Cenkowski S, Izydorczyk M. Thin-layer drying of spent grains in superheated steam. *Journal of Food Engineering*. 2005;67 :457-465.
 61. Stroem LK, Desai DK, Hoadley AFA. Superheated steam drying of Brewer's spent grain in a rotary drum. *Advanced Powder Technology*. 2009;20 :240-244.
 62. Ideia P. Resíduos da Indústria Agro-Alimentar Como Possíveis Fontes de Ácido Ferúlico. Dissertação Universidade da Madeira. 2016.
 63. Mussatto SI. Brewer's spent grain: A valuable feedstock for industrial applications. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2014;94 :1264-1275.
 64. Roberts RT. Use of extract os spent grains as an antifoaming agent in fermentors. *Journal of the Institute of Brewing*. 1976;82 :1-96.
 65. Prentice N, D'Appolonia BL. High-fiber bread containing brewers spent grain. *Cereal Chemistry*. 1977;54 :1084-1095.
 66. Belibasakis NG, Tsirgogianni D. Effects of wet brewers grains on milk yield, milk composition and blood components of dairy cows in hot weather. *Animal Feed Science and Technology*. 1996;57 :175-181.
 67. Handbook of Dietary Fiber - CRC Press Book.
<https://www.crcpress.com/Handbook-of-Dietary-Fiber/Cho/p/book/9780824789602>. Accessed November 4, 2019.
 68. Axman J. *Effects of Hops β -Acid Extract (Humulus Lupulus L.) on Cattle Performace and Fermentation by Ruminal Microbes*. Dissertação de mestrado, Kansas State University. 2015.

69. Preiss R, Tyrawa C, Krogerus K, Garshol LM, Van Der Merwe G. Traditional Norwegian Kveik are a genetically distinct group of domesticated *Saccharomyces cerevisiae* brewing yeasts. *Frontiers in Microbiology*. 2018; 9:2137.
70. Kveik - Milk The Funk Wiki. http://www.milkthefunk.com/wiki/Kveik#Kveik_Ring.2FKveikstokk_and_Dryin_g. Accessed May 21, 2020.
71. Drying Kveik. Fast and Easy method | HomeBrewTalk.com - Beer, Wine, Mead, & Cider Brewing Discussion Community. <https://www.homebrewtalk.com/forum/threads/drying-kveik-fast-and-easy-method.669196/>. Accessed March 2, 2020.
72. Medidor de humidade - M1295240 KAISER+KRAFT Portugal. https://www.kaiserkraft.pt/embalagem-e-expedicao/pesar/medidor-de-humidade/p/M1295240/?articleNumber=474558&utm_content=Scales%3EScales&utm_term=Scales&customerType=B2C&PC=1GOS&mkwid=sn9dYheKb-dc_pcrId_250925488541_pkw__pmt__slid__pgrid_52357353776_ptaid_pla-405095603201&gclid=CjwKCAiAy9jyBRA6EiwAeclQhJxx3RLnw9xLoyocvc_-aRL2H_66rjlgVc9BLM0-aGjlegZ4aF9RRoCIBYQAvD_BwE. Accessed February 26, 2020.
73. Princ P. Guia para Análise de humidade, Fundamentos e Aplicações *Mettler-Toledo GmbH*. 2017; 44
74. Resende O, Corrêa PC, Goneli ALD, Ribeiro DM. Isotermas e calor isostérico de sorção do feijão. *Ciencia e Tecnologia dos Alimentos*. 2006;26 :626-631.
75. Pratap Singh A, Mandal R, Shojaei M, et al. Novel Drying Methods for Sustainable Upcycling of Brewers' Spent Grains as a Plant Protein Source. *Sustainability*. 2020;12 :3660.
76. Andrade ET de, Correa PC, Teixeira LP, Pereira RG, Calomeni J de F. Cinética de secagem e qualidade de sementes de feijão. *Engevista*. 2006; 8: 83-95.
77. Loira - Vadia. <https://www.cervejavadia.pt/pt/cervejas/loira/>. Accessed June 5, 2020.
78. Goulart MR, Da Silveira CB, Campos ML, De Almeida JA, Manfredi-Coimbra S, De Oliveira AF. Metodologias para reutilização do resíduo de terra diatomácea proveniente da filtração e clarificação da cerveja. *Quimica Nova*. 2011;34 :625-629.
79. Correia ESC. Avaliação do potencial imunoestimulador de polissacarídeos da levedura. Dissertação Universidade de Aveiro, Departamento de Química. 2014.

Anexo 1



Figura A1. Esquema de prensagem da dreche de vadia preta e evaporação e recolha do seu licor não filtrado.

Anexo 2

Tabela A1. Dados da massa da dreche e diferença de massa ao longo dos dias, em kg e em percentagem, para a 1ª e 2ª secagem em cima do pasteurizador.

Dias	Massa da dreche				Diferença de massa				Pasteurizado ou ligado?
	kg		%		kg		%		
	1ª	2ª	1ª	2ª	1ª	2ª	1ª	2ª	2ª
1	0,360	0,480	100,00	100,00	0	0	0	0	-----
1,5	0,283	0,420	78,61	87,50	0,062	0,060	17,22	12,50	-----
2	0,228	0,360	63,33	75,00	0,043	0,060	11,94	12,50	Não
2,5	0,203	0,314	56,39	65,42	0,008	0,046	2,22	9,58	Sim
5	-----	0,192	-----	40,00	-----	0,122	-----	25,42	Não
6	-----	0,160	-----	33,33	-----	0,032	-----	6,67	Sim
13	0,093	0,102	25,83	21,25	0,097	0,058	26,94	12,08	Não
13	-----	0,092	-----	19,17	-----	0,010	-----	2,08	-----
14,5	0,118	0,114	32,78	23,75	-0,037	-0,022	-10,28	-4,58	Sim
15	-----	0,114	-----	23,75	-----	0,000	-----	0,00	Não
16	-----	0,110	-----	22,92	-----	0,004	-----	0,83	Sim
21	-----	0,104	-----	21,67	-----	0,006	-----	1,25	Não
27	0,108	-----	30,00	-----	0,01	-----	2,78	-----	-----
28	-----	0,116	-----	24,17	----	-0,012	-----	-2,50	-----

Tabela A2. Valores de humidade e temperatura do ar ao longo da secagem de dreche com hot trub.

Dias	Horas	Humidade do ar (%)	Temperatura do ar (°C)	Pasteurizador
2,5	17h49	77	19,3	ligado
13	09h28	57	17,0	desligado
14,5	17h51	65	19,7	ligado
15	13h57	81	21,1	ligado
16	15h18	74	17,0	ligado
21	11h05	69	16,5	desligado

Anexo 3

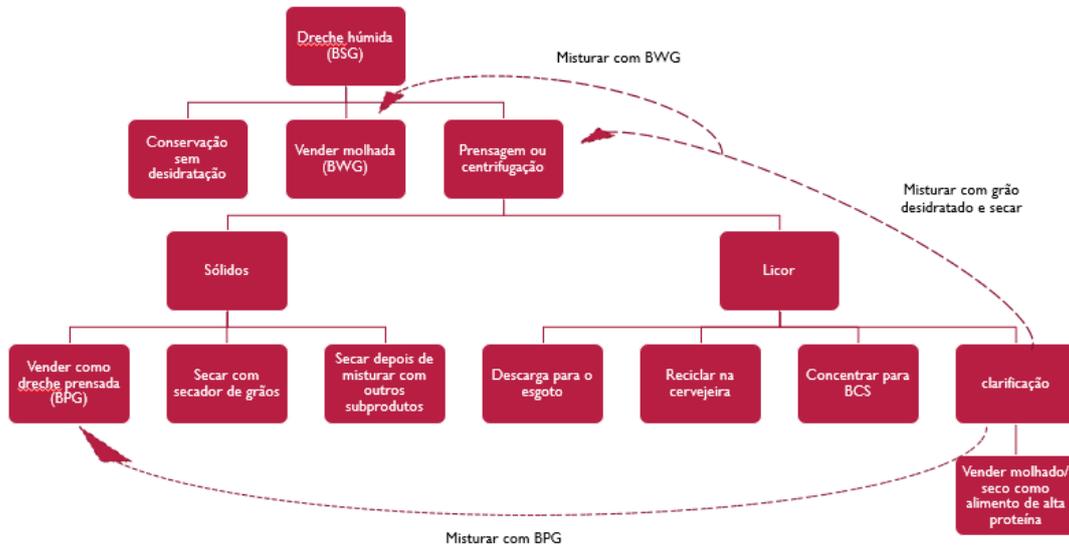


Figura 36. Esquema que sistematiza as formas de venda da dreche (adaptado de ²⁹), BWG-brewer wet grain, BPG-brewer pressed grain, BCS- Brewer condensed solubles