

SARA PATRÍCIA PINTO PADINHA

**VALORIZAÇÃO DA DRECHE PARA DESENVOLVIMENTO
DE NOVOS PRODUTOS**

Orientadora: Professora Doutora Laura da Encarnação Andrade Rainho Teixeira de
Vasconcelos

Co-Orientador: Mestre André Tiago Nogueira Tavares

UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E TECNOLOGIAS

Faculdade de Engenharia

Lisboa

2016

SARA PATRÍCIA PINTO PADINHA

VALORIZAÇÃO DA DRECHE PARA DESENVOLVIMENTO DE NOVOS PRODUTOS

Dissertação defendida em provas públicas para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Biotecnológica na Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias no dia 14/07/2016, perante o júri, nomeado pelo Despacho de Nomeação nº 53/2016, de 1 de Fevereiro, com a seguinte composição:

Presidente:

Prof.^a Doutora Maria Adília Januário Charmier,
ULHT

Vogal:

Prof.^a Doutora Florbela de Oliveira Carvalheiro
Esteves Amaro, LNEG – arguente

Orientador:

Professora Doutora Laura da Encarnação Andrade
Rainho Teixeira de Vasconcelos, ULHT

UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E TECNOLOGIAS

Faculdade de Engenharia

Lisboa

2016

*As pessoas têm estrelas que não são as mesmas. Para os viajantes, as estrelas são guias.
Para outros, não passam de luzinhas. Para outros, os cientistas, são problemas.*

O Príncipezinho de Antoine de Saint-Exupéry

Agradecimentos

A todos os que de algum modo contribuíram para a concretização do meu trabalho, um muito obrigado! Sem a vossa força e apoio, a todos os níveis, nada teria sido possível.

Ao Director de mestrado de Engenharia Biotecnológica da ULHT, a oportunidade para a concretização do curso.

À Professora Doutora Florbela Carvalheiro e a todos os colaboradores do LNEG que de alguma forma me ajudaram, pelo apoio, disponibilidade e ensinamentos.

À Doutora Teresa Sampaio e aos seus colegas da Sociedade Central de Cervejas, pela disponibilidade e prontidão sempre que precisei.

Ao Engenheiro Miguel Gonçalves, pelo que me ensinou, motivou e sempre se esforçou para manter-me no rumo certo.

Ao serralheiro metalomecânico Ricardo, da empresa Moisés e Jesus, pela habilidade, experiência e colaboração.

Aos meus orientadores Laura de Vasconcelos e André Tavares pelo incentivo, compreensão, disponibilidade e ajuda. Obrigada pela paciência que tiveram, por nunca terem desistido de mim e estarem sempre prontos para me apoiar.

A todos os meus Professores que sempre estiveram disponíveis para me ajudar e orientar.

À minha colega de mestrado e amiga Vanessa, que foi incansável a trabalhar comigo e a manter-me focada. Sem ela não teria conseguido.

Aos meus pais que tornaram tudo possível e sempre acreditaram em mim. Obrigado por me aturarem!

Ao meu irmão, que mesmo longe esteve sempre presente!

Ao Rui, por estar sempre do meu lado e incentivar-me sempre a continuar e não desistir. Obrigada por fazeres parte da minha vida!

Ao Igor, pois sem ele nada fazia sentido. É quem me dá força para seguir em frente e melhorar a cada dia. Obrigada por existires!

A todos os meus amigos e família, que sempre me entenderam, apoiaram, ouviram, aconselharam e estiveram sempre presentes mesmo quando ausentes.

À minha colega de trabalho e amiga Mariana, que me ajudou imenso, orientou-me quando precisei e aconselhou-me da melhor forma possível. Obrigado!

Resumo

Esta dissertação tem como objectivo a valorização da dreche, aproveitando a sua riqueza em termos de nutrientes e evitando o desperdício de um produto que poderá servir como suplemento alimentar no futuro. Como a dreche é um subproduto da produção da cerveja, produzida em grandes quantidades em Portugal e no resto do mundo, conseguimos obter, à partida, um projecto bastante rentável. O objectivo principal é compreender todo o processo de ensilagem e conseguir esquematizar um equipamento para ensilar a dreche, optimizando o pH, a humidade e o oxigénio e aumentando o tempo de vida da dreche de modo a conseguir manipular a matéria-prima com possibilidade de desenvolver novos produtos.

Usaram-se dreches da Sagres, à base de malte, e dreches de cerveja artesanal à base de malte e à base de malte e trigo.

Foram feitas análises para determinar a quantidade de proteínas, polissacáridos, grupos acetilo e lenhina, tanto das dreches normais como das ensiladas. Acompanhou-se a descida do pH das dreches ensiladas ao longo do tempo, que é um dos indicadores do correcto processo de ensilagem, bem como a perda de massa para cálculo de rendimentos.

Foi realizada uma lavagem das dreches ensiladas para quantificação dos ácidos nelas presentes, verificando-se que uma boa ensilagem terá de ter o ácido láctico como ácido maioritário.

Foram feitas bolachas com a dreche normal e ensilada proveniente da Sagres e analisadas a nível nutricional.

Concluiu-se que o aproveitamento da dreche e a sua conservação são processos que poderão vir a ter relevância e impacto no futuro devido ao elevado potencial em inúmeras aplicações nas mais variadas indústrias.

Palavras chave – Dreche, subproduto, cerveja, ensilagem.

Abstract

The purpose of this thesis is to value brewery spent grains (BSG), taking advantage of its richness concerning nutrients and avoiding the disposal of a product that may potentially be used as a food supplement in the future. Since BSG are a sub product of the production of beer, produced in large quantities in Portugal and in the rest of the world, we may, potentially, obtain a very profitable project. The main goal is to understand the complete silage process, being able to streamline a piece of equipment that will silage the BSG, optimizing pH, moisture and oxygen and increasing the shelf life of the BSG, in order to be able to manipulate the raw material with the potential to develop new products.

BSG from Sagres, malt based, and craft beer, wheat and malt based were used.

Tests were performed to determine the amount of proteins, polysaccharides, acetyl and lignin group, both for normal and silage BSG. The decrease in the pH of the silage BSG was followed, which is one of the indicators for the correct process of silage, as well as the loss of malt for the calculation of performance.

A wash of the silage BSG was performed in order to quantify the acids present in said BSG, and it was possible to verify that a good silage must have the lactic acid has the majority acid.

Cookies were made utilizing normal and silage BSG from Sagres and its nutritional level was analyzed.

It was concluded that, taking advantage of BSG and its conservation are processes that may have a relevance and impact no future due to the high potential in countless applications for various industries.

Keywords – BSG, by-product, beer, silage.

Lista de Abreviaturas e Siglas

Ara Arabinose

LAB do inglês ‘‘Lactic acid bacteria’’

BSG do inglês ‘‘Brewery spent grains’’

FDA ‘‘Food and Drugs Administration’’

GBF do inglês ‘‘Germinated barley foodstuff’’

Gn Glucano

HPLC do inglês ‘‘High performance liquid chromatography’’

VOCs do inglês ‘‘Volatile organic compounds’’

Xn Xilano

Xyl Xilose

Índice geral

1. Introdução.....	1
1.1. <i>Sustentabilidade mundial.....</i>	<i>1</i>
1.2. <i>Produção de cerveja.....</i>	<i>2</i>
1.2.1. Matérias-primas.....	3
1.2.2. Processo de produção.....	5
1.2.3. Ação enzimática.....	8
1.3. <i>Dreche.....</i>	<i>11</i>
1.3.1. Caracterização morfológica.....	11
1.3.2. Caracterização química.....	13
1.3.3. Caracterização funcional.....	16
1.4. <i>Aplicações da dreche.....</i>	<i>18</i>
1.4.1. Nutrição animal.....	18
1.4.2. Nutrição humana.....	19
1.4.3. Produção de energia.....	21
1.4.4. Produção de carvão.....	21
1.4.5. Componente de tijolo.....	22
1.4.6. Fabrico de papel.....	23
1.4.7. Adsorvente.....	23
1.4.8. Processos biotecnológicos.....	24
1.4.8.1. Substrato no cultivo de microrganismos.....	25
1.4.8.2. Substrato na produção de enzimas.....	25
1.4.8.3. Aditivo ou suporte no processo de produção de cerveja.....	25
1.4.8.4. Fonte de produtos de valor acrescentado.....	26
1.5. <i>Armazenamento.....</i>	<i>27</i>
1.6. <i>Ensilagem.....</i>	<i>28</i>
1.7. <i>Produção de bolachas e outros produtos.....</i>	<i>35</i>
2. Materiais e Métodos.....	37
2.1. <i>Construção do silo.....</i>	<i>37</i>

2.2.	<i>Preparação e caracterização das amostras</i>	38
2.3.	<i>Monitorização do pH e cálculo da perda de massa durante a ensilagem</i>	40
2.4.	<i>Determinação da proteína</i>	40
2.5.	<i>Determinação dos polissacáridos e grupos acetilo</i>	40
2.6.	<i>Determinação da lenhina Klason</i>	41
2.7.	<i>Extracção aquosa dos compostos solúveis produzidos durante a ensilagem</i> ..	41
2.8.	<i>Preparação das bolachas</i>	42
3.	Resultados e Discussão	43
3.1.	<i>Ensilagem</i>	43
3.2.	<i>Determinação de proteína</i>	43
3.3.	<i>Determinação da composição química das amostras</i>	44
3.4.	<i>Monitorização do pH e do peso ao longo do tempo</i>	45
3.5.	<i>Quantificação dos ácidos presentes nas dreches ensiladas</i>	47
3.6.	<i>Produção de bolachas</i>	50
3.7.	<i>Avaliação Nutricional e Química das Bolachas</i>	51
3.8.	<i>Contaminações</i>	51
4.	Considerações finais e perspectivas futuras	56
4.1.	<i>Considerações finais</i>	56
4.2.	<i>Perspectivas futuras</i>	57
5.	Referências bibliográficas	59
	Anexos	65

Índice de Tabelas

TABELA 1: QUANTIDADE DE CERVEJA PRODUZIDA NOS 4 PAÍSES COM MAIOR PRODUÇÃO.	1
TABELA 2: INTERVALO DE TEMPERATURA DE ACTUAÇÃO DAS ENZIMAS DO AMIDO.	9
TABELA 3 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA DRECHE (BSG) E GÉNEROS ALIMENTÍCIOS DE CEVADA GERMINADA (GBF). (MUSSATO ET AL., 2006).....	15
TABELA 4 - COMPOSIÇÃO DOS GRÃOS USADOS DE DUAS VARIEDADES DE CEVADA, TRIUNFE E GOLF (MUSSATO ET AL., 2006).....	15
TABELA 5 – GAMA DE ANIMAIS INVESTIGADOS PARA CONSUMO DE DRECHE. (MUSSATO ET AL., 2006)	19
TABELA 6 – PROPRIEDADES DA FARINHA DE DRECHE NOS ALIMENTOS (MUSSATO ET AL., 2006).	20
TABELA 7 – VALORES CALORÍFICOS DE CARVÕES PRODUZIDOS A PARTIR DE DIFERENTES MATÉRIAS-PRIMAS. (MUSSATO ET AL., 2006).....	22
TABELA 8 – CAPACIDADE DE ADSORÇÃO DE ALGUNS MATERIAIS DE BAIXO CUSTO PARA O CÁDMIO CRÓMIO E CHUMBO. (MUSSATO ET AL., 2006)	24
TABELA 9 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CAPACIDADE TAMPÃO DAS FORRAGENS DE COLHEITA TÍPICAS. (WATTIAUX, SD).....	31
TABELA 10 - COMPARAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA ENTRE A FARINHA DE TRIGO E A FARINHA DE DRECHE (% PESO SECO) (FARCAS, A., ET AL, 2014)	36
TABELA 11 - EQUIPAMENTO E CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO PARA AS ANÁLISES POR HPLC.	41
TABELA 12: EQUIPAMENTO E CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO PARA AS ANÁLISES POR HPLC.	42
TABELA 13 – VALOR MÉDIO DE PROTEÍNA, EXPRESSO EM %, EM CADA TIPO DE DRECHE.....	43
TABELA 14 – DADOS DAS AMOSTRAS, EXPRESSO EM %, EM CADA TIPO DE DRECHE.....	44

TABELA 15 - MONITORIZAÇÃO DO PH E DO PESO AO LONGO DO TEMPO.	46
TABELA 16 : RESULTADOS DA ANÁLISE QUÍMICA E NUTRICIONAL ÀS BOLACHAS DE DRECHE NORMAL E ENSILADA.	51
TABELA 17 : RESULTADOS DA ANÁLISE QUÍMICA E NUTRICIONAL ÀS BOLACHAS DE DRECHE NORMAL E ENSILADA.	51

Índice de Figuras

FIGURA 1 - FISIONOMIA DA CEVADA: A - CEVADA DE SEIS FILEIRAS; B - CEVADA DE DUAS FILEIRAS (TAVARES, 2012).....	4
FIGURA 2 - FISIONOMIA DO LÚPULO: A - FLOR DE LÚPULO; B - FLOR DE LÚPULO EM PELLETS (MEGA ET AL., 2011)	4
FIGURA 3 - LEVEDURA SACCHAROMYCES CEREVISIAE (MEGA ET AL., 2011).....	5
FIGURA 4: FASES DO PROCESSO DE FABRICO DO MOSTO.....	5
FIGURA 5 - DIAGRAMA DO PROCESSO DE FABRICO DE CERVEJA (TAVARES, 2012).....	8
FIGURA 7: TEMPERATURAS E PH ÓPTIMOS PARA A AÇÃO DAS DIFERENTES ENZIMAS DURANTE A SACARIFICAÇÃO DO AMIDO. (TAVARES, 2012)	10
FIGURA 8: ESQUEMA REPRESENTATIVO DO PROCESSO DE OBTENÇÃO DE DRECHE A PARTIR DO GRÃO NATURAL. (ADAPTADO DE MUSSATO, 2006)	11
FIGURA 9: ESQUEMA REPRESENTATIVO DO NÚCLEO DA CEVADA NA SECÇÃO LONGITUDINAL. (ADAPTADO DE LEWIS AND YOUNG, 1995).	12
FIGURA 10: MICROSCOPIA DE VARRIMENTO DE ELECTRÕES DAS PARTÍCULAS DA DRECHE. (A) AMPLIAÇÃO 100 VEZES; (B) AMPLIAÇÃO 300 VEZES. (MUSSATO, 2006).....	13
FIGURA 11: ESQUEMA PARA FABRICO DO SILO.	37
FIGURA 12: O SILO, NA FASE EXPERIMENTAL, NO DECORRER DE UMA ENSILAGEM.	38
FIGURA 13: FOTOGRAFIA DAS 3 DRECHES USADAS. (DA ESQUERDA PARA A DIREITA) A) DRECHE PROVENIENTE DA SAGRES; B) DRECHE ARTESANAL À BASE DE MALTE; C) DRECHE ARTESANAL À BASE DE MALTE E TRIGO.....	39
FIGURA 14: VALORES DE CELULOSE, HEMICELULOSE E LENHINA DOS DIFERENTES TIPOS DE DRECHE, EXPRESSOS EM PORCENTAGEM.	45
FIGURA 15 - FRASCOS COM DRECHE ENSILADA.....	45

FIGURA 16: GRÁFICO COM A VARIAÇÃO DO PESO AO LONGO DO TEMPO.....	46
FIGURA 17: GRÁFICO COM A VARIAÇÃO DO PH AO LONGO DO TEMPO.....	47
FIGURA 18 - CROMATOGRAMA DE QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS PRESENTES NA DRECHE DA SAGRES ENSILADA (PRIMEIRA ANÁLISE).....	48
FIGURA 19 – CROMATOGRAMA DE QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS PRESENTES NA DRECHE DA SAGRES ENSILADA (SEGUNDA ANÁLISE).....	48
FIGURA 20 – CROMATOGRAMA DE QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS PRESENTES NA DRECHE DE MALTE E TRIGO ENSILADA (PRIMEIRA ANÁLISE).	49
FIGURA 21 – CROMATOGRAMA DE QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS PRESENTES NA DRECHE DE MALTE E TRIGO ENSILADA (SEGUNDA ANÁLISE).	49
FIGURA 22 - BOLACHAS DE DRECHE NO FORNO	50
FIGURA 23 - BOLACHAS DE DRECHE COZINHADAS.	50
FIGURA 24 - BOLACHAS DE DRECHE COZINHADAS.	50
FIGURA 25: OBSERVAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO DA DRECHE, 2ª TENTATIVA NO SILO.	51
FIGURA 26: OBSERVAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO DA DRECHE, 2ª TENTATIVA NO SILO.	52
FIGURA 27: OBSERVAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO DA DRECHE 2ª TENTATIVA NO SILO.	52
FIGURA 28: OBSERVAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO DA DRECHE, 1ª TENTATIVA EM LATAS.....	52
FIGURA 29: OBSERVAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO DA DRECHE, 1ª TENTATIVA EM LATAS.....	53
FIGURA 30: OBSERVAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO DA DRECHE, 2ª TENTATIVA EM LATAS.....	53
FIGURA 31: OBSERVAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO DA DRECHE, 3ª TENTATIVA EM LATAS.....	53
FIGURA 32: OBSERVAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO DA DRECHE, 3ª TENTATIVA NO SILO.	54
FIGURA 33: OBSERVAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO DA DRECHE, 3ª TENTATIVA NO SILO.	54

FIGURA 34: OBSERVAÇÃO DA LIBERTAÇÃO DE LÍQUIDOS DA DRECHE CONTIDA NO SILO, 3ª TENTATIVA NO SILO. 54

FIGURA 35: OBSERVAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO DA DRECHE APÓS ABERTURA DO SILO, 3ª TENTATIVA NO SILO. 55

1. Introdução

1.1. Sustentabilidade mundial

Nos dias em que vivemos observamos um aumento social e político, no sentido de promover a redução da poluição proveniente das actividades industriais. Os países, desenvolvidos e subdesenvolvidos têm-se adaptado às novas realidades através da modificação dos seus processos, de forma a possibilitar a reciclagem dos seus resíduos. Por isso, muitas das empresas deixaram de considerar os seus resíduos como lixo, mas sim como matéria para outros processos (Mussato et al., 2006).

Na indústria cervejeira são muitos os subprodutos e resíduos originados, no entanto, sendo a maior parte produtos agrícolas, como por exemplo, o malte (radículas e embrião) e a trinca de cevada, podem facilmente ser reutilizados.

Destes, a dreche é o subproduto mais abundante na indústria cervejeira, representando cerca de 85% dos subprodutos totais (Reinold, 1997). A dreche formada representa em média 31% do peso do malte inicial (Townshley, 1979), representando aproximadamente 20 kg por cada 100 L de cerveja produzida (Reinold, 1997). Para uma melhor noção dos números a nível global, os 4 países com maior produção de cerveja produziram em 2002 as seguintes quantidades de cerveja, segundo Berto (2003):

Tabela 1: Quantidade de cerveja produzida nos 4 países com maior produção (adaptado de Berto, 2003):

País	Produção de cerveja (Biliões de toneladas)
Estados Unidos da América	23
China	18
Alemanha	10,5
Brasil	8,5

No caso do Brasil, a produção de dreche foi de 1,7 milhões de toneladas (Mussato et al., 2006).

Na Europa, em 2011, a estimativa de dreche produzida era de 8 milhões toneladas, sendo que a Portugal pertencem 166 mil toneladas.

Em termos alimentares, deparamo-nos com a necessidade vital de uma mudança global para uma dieta vegetariana, à base de cereais, frutas, legumes, tubérculos, etc, para salvar o

mundo da fome, da escassez de combustíveis e dos piores impactos das mudanças climáticas. Estima-se que a população aumente para 9,1 biliões de pessoas em 2050 e o consumo de carne e laticínios no Ocidente é insustentável (Hertwich et al, 2010).

Espera-se um crescimento substancial no sector da agricultura devido ao crescimento da população e também um aumento do consumo de produtos de origem animal que, segundo Hertwich et al. (2010), causam mais danos do que produzir minerais de construção como areia e cimento, plásticos e metais, isto porque a biomassa e as plantações necessárias à alimentação dos animais causam tantos danos como queimar combustíveis fósseis.

O aumento da riqueza fez com que a população consumisse mais carne e laticínios, e por isso uma grande parte das colheitas e, conseqüentemente, grande parte de água doce, fertilizantes e pesticidas, são consumidos pelos rebanhos (Hertwich et al, 2010).

Em termos de consumos, a agricultura e, principalmente, a produção de carne e laticínios, tem um peso de 70% da água fresca do planeta, 38% do uso da terra e 19% da emissão de gases de efeito de estufa (Hertwich et al, 2010).

A agricultura teria de aumentar em 70% para fazer face ao crescimento da população com base nos números atuais, o que leva a concluir que a agricultura será ultrapassada pelo aumento da população (Hertwich et al, 2010).

1.2. Produção de cerveja

No campo da psicologia social, a bebida representa um papel mais importante do que a comida, principalmente desde a descoberta primitiva da fermentação, seguida mais tarde da destilação, fazendo do etanol um constituinte das bebidas. A ingestão de bebidas vai além da necessidade fisiológica, a sede, é uma sensação de sabor, de gosto e de desejo.

É praticamente certo que a descoberta da fermentação foi um feliz acaso ainda no tempo dos nómadas, não sendo possível determinar quem descobriu primeiro, qual o primeiro processo conhecido e em que matéria decorreu a fermentação, uma vez que é um processo corrente da natureza.

Sabemos no entanto que a cerveja é o produto biotecnológico mais antigo de que há registo, sendo que a sua existência é determinada por trabalhos arqueológicos datados no século VI a.C., no Irão (Anderson, 2006).

O ponto de viragem na produção de cerveja foi no decorrer do século XIX, quando os produtores adoptaram métodos e conceitos científicos, que lhes permitiu obter cerveja com

maior durabilidade, maior reprodutibilidade e com maior robustez a nível de qualidade. Com base nestes avanços, foram surgindo grandes indústrias multinacionais (Doe, 2007).

Os cientistas com maior destaque na evolução de processos industriais foram L. Pasteur, E. Buchner, E. Hansen, A. Harden e W. J. Young (Meussdoerfer, 2009). Nesta altura, a produção de cerveja era praticamente somente feita por fermentação à temperatura ambiente, por leveduras de alta fermentação, dando origem à cerveja *ale*. Na Baviera, no século XVI, era produzida uma cerveja com recurso a leveduras, sendo possível a sua fermentação a baixas temperaturas (8 a 10°C) e que era guardada nas caves após a fermentação terminar, conhecida hoje como cerveja *lager*. No fim de utilizadas, as leveduras eram recuperadas para posterior reutilização noutras fermentações. Mais tarde, durante o século XIX, este processo vulgarizou-se por permitir um maior controlo da formação de sabores da cerveja e um melhor processo fermentativo, quando comparado com a alta fermentação (Doe, 2007).

Um passo muito importante para a evolução do processo de fabrico da cerveja, tanto a nível técnico como científico, foi o trabalho com estirpes puras, preconizados por E. Hansen (*Carlsberg Brewery*, Copenhaga).

Apesar dos avanços feitos na área da genética molecular, que permitem adaptar as estirpes a determinadas condições e modificá-las geneticamente, a indústria continua a preferir recorrer ao uso de estirpes melhoradas naturalmente (Doe, 2007).

A produção de cerveja depende de vários factores que condicionam o seu aspecto, cor, sabor, durabilidade, etc. No entanto as principais matérias-primas têm de estar presentes, tendo em conta que a sua origem, o tipo de produção e a qualidade influenciam a qualidade da cerveja.

1.2.1. Matérias-primas

A **água** é o principal constituinte da cerveja, representando cerca de 90 a 95% da sua composição. É fundamental que a água seja apropriada para consumo humano e que tenha uma adequada composição de sais minerais. Quanto maior a qualidade da água, melhor será a qualidade do produto obtido.

O **malte**, obtido através da germinação controlada da cevada, é uma fonte de enzimas, proteínas, lípidos e hidratos de carbono. Muito importante na caracterização da cor, corpo e espuma da cerveja.



Figura 1 - Fisionomia da cevada: A - cevada de seis fileiras; B - cevada de duas fileiras [Tavares, 2012]

O **gritz**, obtido a partir da moagem do milho, após este ser submetido a um processo de extracção de gorduras, possui um elevado teor de amido. São grãos crus que não sofrem qualquer processo de maltagem. São responsáveis por atenuar a coloração da cerveja e aumentar o teor de açúcares fermentescíveis. A utilização do milho pode ser substituída por outros cereais não maltados como o arroz, a cevada e o trigo.

Para conferir o gosto amargo característico da cerveja, é usada uma planta aromática, o **lúpulo** (*Humulus lupulus*).



Figura 2 - Fisionomia do lúpulo: A - Flor de lúpulo; B - Flor de lúpulo em *pellets* [Mega et al., 2011]

A **levedura** é essencial no processo de fermentação alcoólica. É um microrganismo unicelular classificado como fungo do género *Saccharomyces*. É responsável por fermentar, em condições anaeróbias, os açúcares em álcool e CO₂, originando produtos secundários (álcoois aromáticos e ésteres) que são os responsáveis pelas características finais da cerveja.

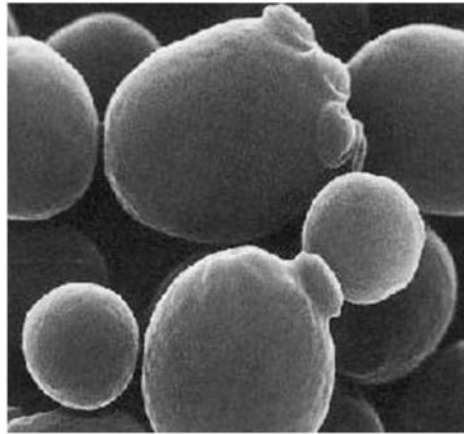


Figura 3 - Levedura *Saccharomyces cerevisiae* [Mega et al., 2011]

1.2.2. Processo de produção

A primeira etapa no processo de produção de cerveja é o fabrico do mosto, que é precedido da maltagem e é subdividido nas seguintes fases:

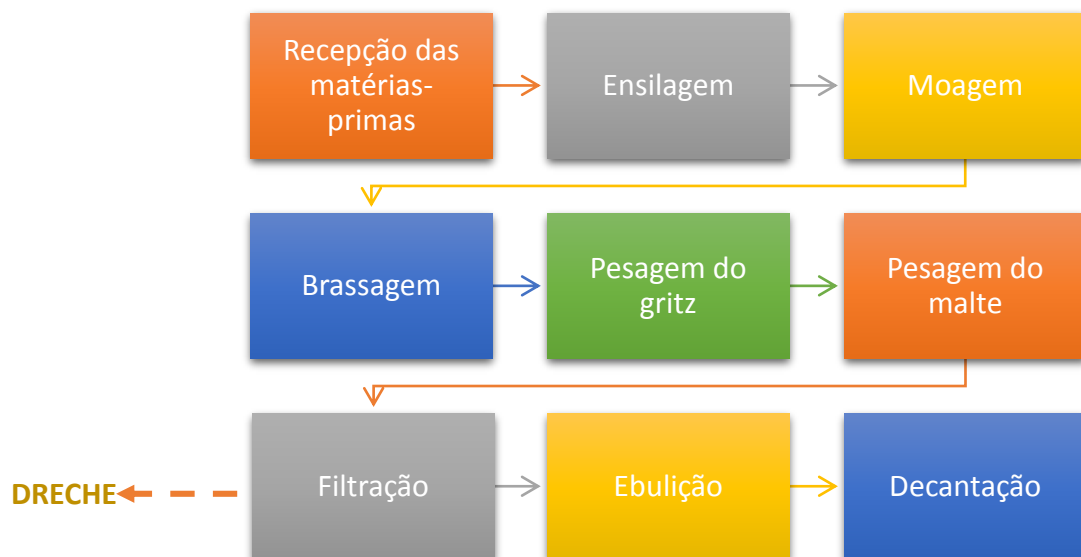


Figura 4: Fases do processo de fabrico do mosto.

Aquando da recepção de matérias-primas, tem de ser feito o controlo de qualidade, enviando amostras para análise em laboratório. Após validação do bom estado das matérias-primas, estas são ensiladas para conservação e posterior utilização.

O malte, antes de ser utilizado, sofre o processo de moagem e é pesado, para que o grão do malte seja transformado em farinha. Este passo é fundamental pois apenas neste estado, o malte consegue uma acção eficaz das enzimas sobre o amido.

O griz é recepcionado na granulometria pretendida, ficando pronto para utilização, após a pesagem.

Na brassagem são utilizadas duas caldeiras, uma de calda, onde é feita a mistura do griz e da água, e outra de empastagem, onde se procede à mistura da água com o malte. Após a mistura com a água, em condições controladas de tempo, pH e temperatura, as enzimas do malte degradam o amido e as proteínas em açúcares fermentescíveis e aminoácidos necessários para o metabolismo da levedura. A mistura resultante da caldeira de caldas é adicionada à caldeira de empastagem, onde ocorrerá o aquecimento até cerca de 76°C, dando por terminada a fase de sacarificação.

A filtração do mosto é fundamental para o aspecto do mosto, sendo que quanto mais brilhante e sem sedimentos, melhor a eficiência da filtração e melhor a qualidade do produto final, a cerveja. Uma má filtração pode originar problemas na fermentação do mosto e consequentemente a formação de produtos indesejados na cerveja.

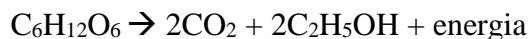
A filtração promove uma separação entre o mosto e a fase insolúvel, que é constituída pelos revestimentos dos grãos de cevada, alguns lípidos, proteínas e outros componentes, esta fase é designada por dreche.

Após obter um mosto correctamente filtrado, procede-se à ebulição do mosto, juntando extracto de lúpulo. A temperatura elevada permite a esterilização do mosto, destruição das enzimas, solubilização e isomerização dos princípios activos do lúpulo, coagulação das proteínas, concentração do mosto e eliminação de substâncias voláteis indesejáveis. O aquecimento deverá ser no entanto suave, para não induzir um excesso de oxidações do mosto.

O mosto é clarificado por meio de um processo de decantação. Esta fase permite a separação do precipitado proteico e dos componentes do lúpulo não solubilizados, do mosto quente. O precipitado recolhido é reutilizado na fase de sacarificação, processo denominado de *trouble*.

Após concluído o fabrico do mosto procede-se à fermentação, que obriga a que o mosto esteja a uma temperatura próxima da temperatura inicial de fermentação. Esta temperatura define-se como a temperatura óptima da levedura, ou seja, não induz à sua destruição e favorece o seu desenvolvimento. O arejamento também é importante para satisfazer as necessidades de oxigénio da levedura, uma vez que este nutriente é fundamental para a reconstituição da parede

citoplasmática, em especial os componentes de esteróis insaturados, ergosterol e zimosterol. Após estabelecidos estes dois parâmetros, procede-se à inoculação da levedura no mosto. O mosto é colocado em cubas cilindro-cónicas e nesta fase, os açúcares são transformados em etanol, dióxido de carbono e energia por acção da levedura (Adams e Moss, 2002).



A fermentação decorre em meio anaeróbio, com temperatura controlada (inicialmente a 9°C, passando naturalmente para os 12°C) durante 5 a 7 dias. Ao fim deste tempo, a levedura deposita-se no fundo da cuba, permitindo a sua remoção, reciclagem e reutilização. Durante a fermentação são formados alguns subprodutos que mesmo em pequenas quantidades, contribuem para o aroma da cerveja, como os aldeídos, álcoois superiores e ésteres.

Procede-se ao armazenamento da cerveja, processo designado por maturação, a baixas temperaturas, para que sejam eliminados compostos voláteis indesejáveis, como o diacetilo. Após terminada esta fase, segue-se a estabilização a frio, precipitando os complexos de proteínas e polifenóis e levedura, devido à baixa temperatura, de forma a garantir o equilíbrio coloidal e evitando assim a sua dissolução.

Para concluir o processo de fabrico da cerveja, procede-se à sua clarificação, na qual são eliminados por filtração os últimos elementos de turvação ainda em suspensão, para obtenção de um produto final inteiramente límpido. Segue-se o enchimento e comercialização.

É muito importante, em todas as etapas, o controlo de qualidade, a fim de assegurar a ausência de contaminação por microrganismos e o cumprimento dos parâmetros de qualidade exigidos (Tavares, 2012).

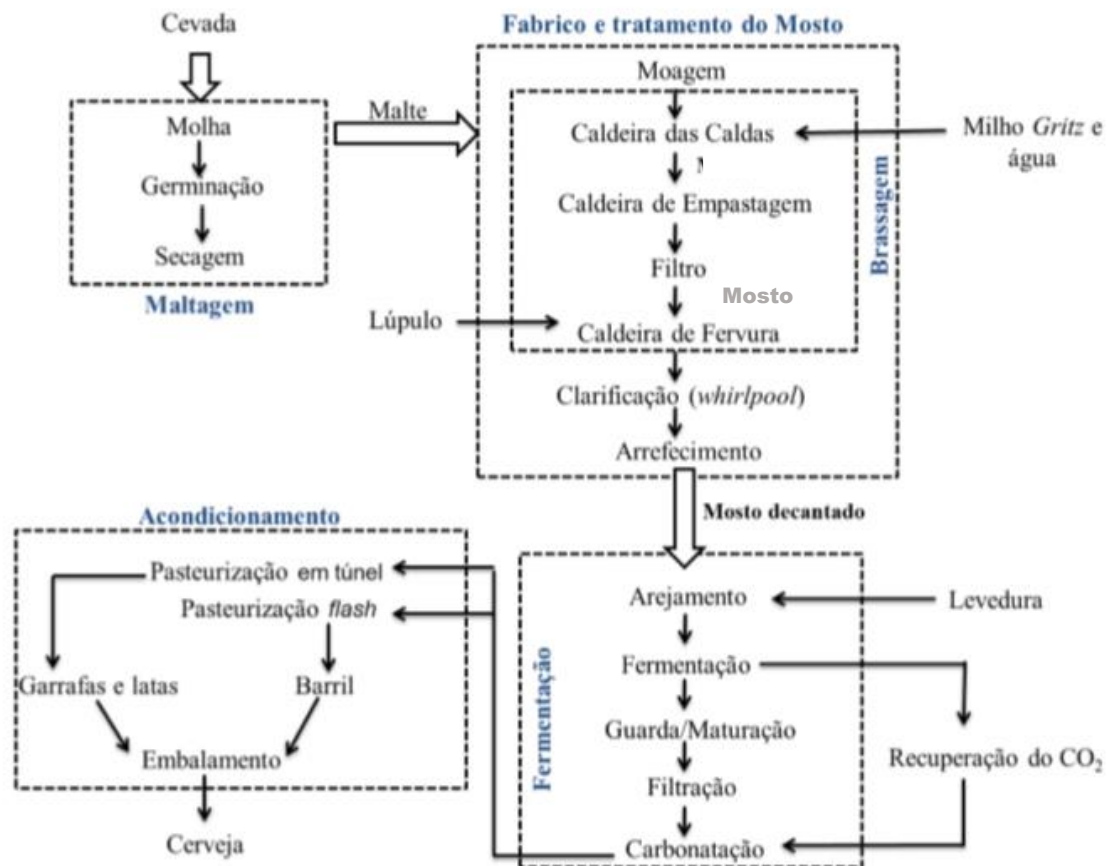


Figura 5 - Diagrama do processo de fabrico de cerveja (Tavares, 2012)

1.2.3. Ação enzimática

Na preparação para a produção de cerveja, a cevada colhida é limpa e classificada consoante o seu tamanho. Os que são classificados como arredondados e médios, são retidos em peneiros com aberturas de 2.5, 2.4, 2.2 e 2.0 mm e são maltados separadamente. Após o período de dormência de 4 a 6 semanas, a cevada é maltada num processo de germinação controlado, que tem o objectivo de aumentar o conteúdo enzimático dos grãos. A maltagem é realizada em 3 passos: maceração, germinação e secagem (Mussato et al, 2006).

Durante a maceração, os grãos de cevada limpos são colocados em tanques com água, entre os 5 e os 18°C, durante aproximadamente 2 dias. A água entra no embrião, através do micrópilo e eventualmente a humidade nos grãos atinge entre 42% e 48%. A água de maceração é substituída a cada 6-8 horas e não é reciclada. A hidratação durante a maceração inicia a germinação e conduz à activação do metabolismo da aleurona. Após a maceração, a cevada é transportada para um vaso de germinação, que é girado por giradores de parafusos, e mantido

em contacto com uma corrente de ar húmido que corre através do contentor de grãos e mantém a temperatura entre os 15 e os 21°C. O passo da germinação promove a síntese e activação de enzimas na aleurona e no endosperma amiláceo, incluindo amílases, protéases, β -glucanases e outras (Tabela 2). A acção destas enzimas modifica a estrutura do endosperma amiláceo. No fim do processo de germinação, que normalmente dura 6 a 7 dias, o endosperma está inteira e uniformemente modificado. A cevada maltada é seca a 40 – 60°C, para um teor de humidade de 4 - 5%, de forma a impedir contaminação microbiana e para gerar os componentes de sabor. Após este passo, o malte seco é armazenado durante 3 a 4 semanas, para atingir homogeneidade e equilíbrio (Kendall, 1994; Tschöpe, 2001; Venturino Filho e Cedera, 2001).

No processo de produção de cerveja, a cevada maltada é moída, misturada com água na caldeira de empastagem (se for *gritz* é na caldeira das caldas) e a temperatura é suavemente aumentada (de 37 até 78°C) para promover a hidrólise enzimática dos constituintes do malte e para solubilizar os seus produtos de degradação. O primeiro constituinte a ser degradado é o amido, mas também se degradam outros componentes, como as proteínas (1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4)- β -glucanas e arabinosilanas (Mussato et al, 2006).

As enzimas actuam:

Tabela 2: Enzimas envolvidas na degradação do amido e respectivas temperaturas de actuação (adaptado de Tavares,2012).

Enzimas	Intervalo de actuação (°C)
Glucanases	35 – 45
Proteínases	45 – 55
β-amilases	55 – 65
α-amilases	68 – 73

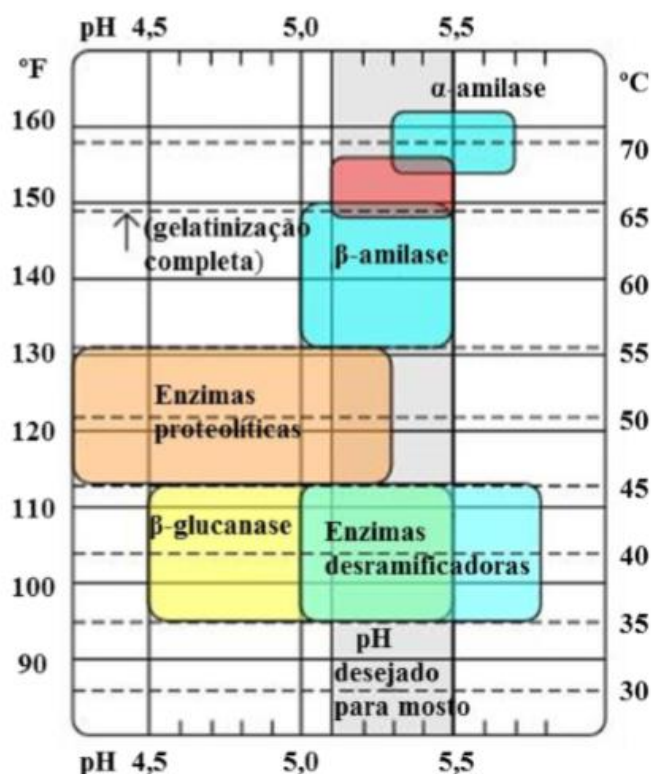


Figura 6: Temperaturas e pH óptimos para a ação das diferentes enzimas durante a sacarificação do amido (Tavares, 2012).

Durante este processo, o amido é convertido em açúcares fermentescíveis (principalmente maltose e maltotriose) e açúcares não fermentescíveis (dextrinas), e as proteínas são parcialmente degradadas em polipéptidos e aminoácidos. Este passo de conversão enzimática (brassagem) produz um líquido doce conhecido por mosto. A parte insolúvel, não degradada do grão de cevada maltada é deixada em repouso para formar uma camada na cuba filtro ou num filtro prensa e o mosto é filtrado através dessa parte (clarificação). O mosto filtrado é usado como meio de fermentação para produzir cerveja. (Dragone et al., 2002; Linko et al., 1998). A parte residual é a dreche (figura 7).

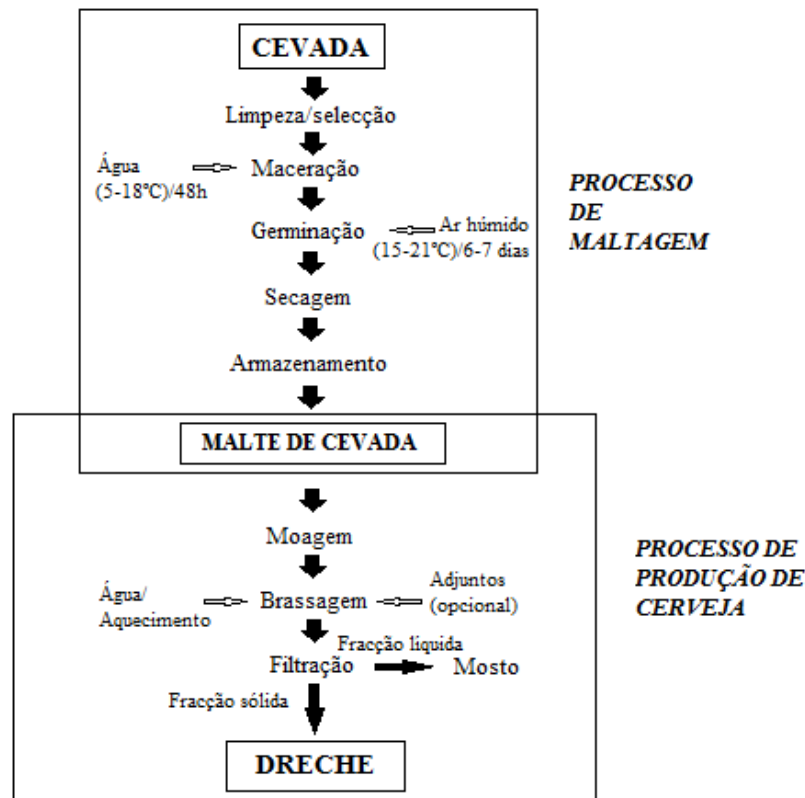


Figura 7: Esquema representativo do processo de obtenção de drecche a partir do grão natural. (Adaptado de Mussato, 2006)

O processo de produção de cerveja é selectivo, removendo apenas os nutrientes do malte necessários à produção do mosto, deixando lavadas as proteínas insolúveis em água e os resíduos de parede celular do revestimento, pericarpo e revestimento da semente com os grãos usados (Townsend, 1979). Dependendo do tipo de cerveja a ser produzida, a drecche pode consistir em resíduos da cevada maltada, com ou sem adjuntos (fontes não maltadas de açúcares fermentescíveis), como trigo, arroz ou milho adicionados durante a brassagem (Reinold, 1997).

1.3. Drecche

1.3.1. Caracterização morfológica

Depois do arroz, do milho e do trigo, a cevada é o cereal mais importante e é usado principalmente para rações animais e produção de cerveja (Kendal, 1994). O grão de cevada é rico em amido e proteínas e consiste em três partes:

- Germe (embrião)

- Endosperma (engloba a aleurona e a sub-aleurona)
- Revestimentos, que podem ser separados em 3 fracções, que são o **revestimento da semente**, camadas mais internas em torno da aleurona, que estão sobrepostas pelas camadas do **pericarpo**, que por sua vez, está coberto pelo revestimento externo (Kunze, 1996). Ver a figura 8.

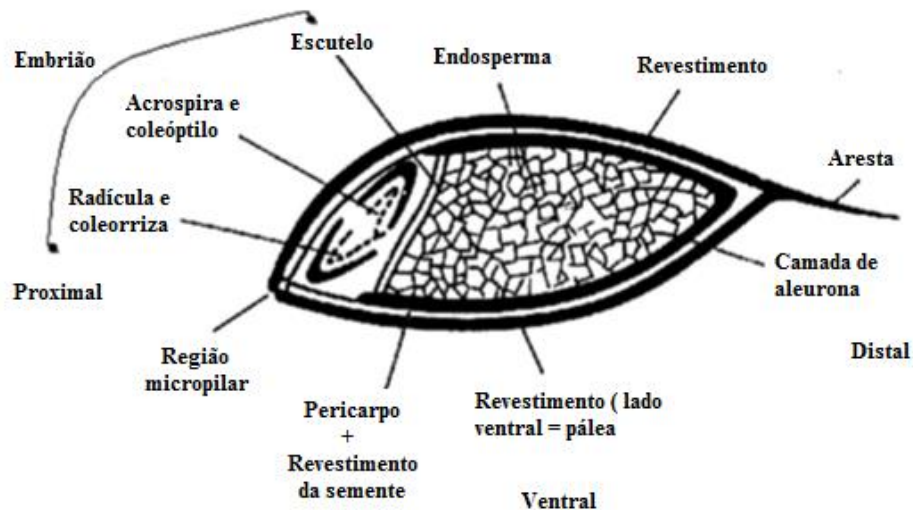


Figura 8: Esquema representativo do núcleo da cevada na secção longitudinal. (adaptado de Lewis and Young, 1995).

Devido à textura sedosa e um tanto impermeável do pericarpo, e aos revestimentos da semente que actuam como uma membrana semi permeável, a interface pericarpo – revestimento da semente, define o interior e o exterior do núcleo. A casca oferece ao grão uma protecção externa, com várias camadas, tecidos mortos compostos principalmente por paredes celulares lenhocelulósicas e pequenas quantidades de proteínas, resinas e taninos (Lewis and Youn, 1995; Venturini Filho and Cereda, 2001).

Nas paredes **celulares** vegetais estão presentes fibras, principalmente na casca, atribuindo firmeza e estrutura ao alimento vegetal. É composta sobretudo por polissacáridos complexos associados a polifenóis, a proteínas e fitatos, sendo que a sua concentração varia com a espécie, variedade e armazenamento (Araújo, 1998).

1.3.2. Caracterização química

A dreche consiste basicamente em camadas de revestimento de sementes, casca e pericarpo que cobrem os grãos de cevada ao início. Dependendo da uniformidade do malte, pode ter mais ou menos amido mas a quantidade será negligível e alguns resíduos de lúpulo introduzidos durante a brassagem também estarão presentes, dependendo do processo de fabrico de cerveja seguido. O componente maioritário da dreche serão as paredes do revestimento-pericarpo-semente, que são ricas em polissacáridos celulósicos e não celulósicos e lenhina, e possivelmente contém algumas proteínas e lípidos. A casca também contém quantidades consideráveis de sílica e muitos componentes polifenólicos dos grãos de cevada (Macleod, 1979). Cerca de 25% dos minerais presentes na cevada são silicatos (Kunze, 1996). Na figura 9, podemos ver o aspecto das partículas da dreche por microscopia de varrimento de electrões. Os pontos brilhantes da porção externa da casca são silicatos.

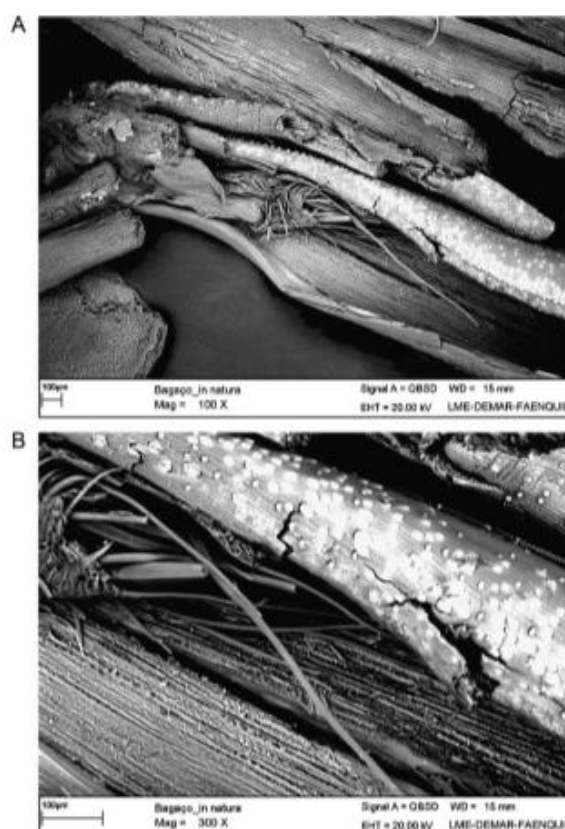


Figura 9: Microscopia de varrimento de electrões das partículas da dreche. (A) Ampliação 100 vezes; (B) Ampliação 300 vezes (Mussato, 2006).

A composição química da dreche varia de acordo com a variedade do grão, tempo de colheita, condições de maltagem e de brassagem, e a qualidade e tipo de adjuntos adicionados no processo de produção de cerveja (Huige, 1994; Santos et al., 2003). No entanto, em geral, a dreche é considerada um material lenhocelulósico rico em proteína e fibra, o que contribui com cerca de 20 a 70 % da sua composição, respectivamente. A análise microscópica permite observar a presença de numerosos tecidos fibrosos nas camadas superficiais no grão de cevada original (Fig. 9). A maioria dos componentes destes tecidos fibrosos são arabinosilanos, lenhina (macromolécula polifenólica) e celulose (homopolímero linear de unidades de glucose). Na tabela 3 são apresentados alguns resultados da bibliografia para a composição química da dreche. Santos et al. (2003) encontraram para além da fibra, 24.2% proteína, 3.9% lípidos e 3.4% cinzas de dreche seca em estufa. A tabela 4 mostra a composição em proteína, amido e polissacáridos não amiláceos e análises de monossacáridas da fracção polissacárida não amilácea da dreche obtida a partir de ensaios à escala piloto com cevada para maltagem e cevada forrageira. As proteínas e fibras estão altamente concentradas nos grãos já utilizados porque a maior parte do amido da cevada foi removido durante a brassagem (Kissel and Prentice, 1979).

Também se verifica a existência de vitaminas, minerais e aminoácidos na dreche. Os elementos minerais incluem cálcio, cobalto, cobre, ferro, magnésio, manganês, fósforo, potássio, selénio, sódio e sulfato, e encontram-se todos a uma concentração inferior a 0.5%. As vitaminas incluem (ppm): biotina (0.1), colina (1800), ácido fólico (0.2), niacina (44), ácido pantoténico (8.5), riboflavina (1.5), tiamina (0.7) e piridoxina (0.7). Os aminoácidos incluem leucina, valina, alanina, serina, glicina, ácido glutâmico e ácido aspártico em grandes quantidades e tirosina, prolina, trionina, arginina e lisina em quantidades menores. A cistina, histidina, isoleucina, metionina, fenilalanina e triptofano também podem estar presentes (Mussato et al., 2006).

Tabela 3 - Composição química da dreche (BSG) e géneros alimentícios de cevada germinada (GBF) (Mussato et al., 2006).

Componente	BSG^a	BSG^b	GBF^a	GBF^c
(% peso seco)				
Celulose	25,4	16,8	8,9	9,1
Arabinosilano	21,8	28,4	17,0	19,2
Lenhina	11,9	27,8	8,2	6,7
Proteína	24,0	15,2	46,0	48,0
Lípido	10,6	Nd	10,2	9,2
Cinza	2,4	4,6	2,0	2,0

^a Kanauchi et al. (2001)^b Mussato e Roberto (2005)^c Fukuda et al. (2002). Nd, não determinado.**Tabela 4** - Composição da dreche de duas variedades de cevada, Triunfe e Golf (Mussato et al., 2006)

Posição no silo	Triunfe			Golf		
	Topo	Meio	Fundo	Topo	Meio	Fundo
Proteína	24 ^a	16	16	27	24	20
Amido	26 ^a	13	14	5	6	7
Polissacáridos	24 ^a (0,67) ^c	38 (0,74)	38 (0,89)	37 (0,61)	44 (0,60)	47 (1,38)
Não amiláceos						
Ara/Xyl	0,71	0,47	0,48	0,48	0,43	0,42
Arabinose	25 ^d	22	22	21	19	19
Xilose	35	47	46	44	44	45
Manose	3	1	1	2	1	1
Galactose	5	2	3	3	2	2
Glucose	34 (3) ^e	27 (2)	29 (2)	31 (2)	34 (1)	34 (3)

^a os valores são expressos em % peso/peso em matéria seca.^b Amilácios = glucose, maltodextrinas e fragmentos amiláceos residuais.^c Valores em parentesis são (1→3, 1→4)-β-glucanas contidos em % (p/p em matéria seca).^d % mol em polissacáridos não amiláceos.^e Valores em parentesis são (1→3, 1→4)-β-glucanas como fracção total de monossacáridos (em % mol)

1.3.3. Caracterização funcional

Os alimentos que pertencem ao grupo dos derivados de cereais e tubérculos, têm como característica principal a riqueza em hidratos de carbono complexos, que é a principal fonte de energia para as células. São praticamente isentos de gordura e fornecedores de proteínas de média qualidade, apresentando como aminoácido limitante o triptofano. São também boas fontes de minerais (selénio, potássio e magnésio) e de vitaminas (B1, B2, B3 e B6). Os cereais integrais apresentam um elevado teor de fibra, especialmente fibra insolúvel, a qual desempenha várias funções importantes no organismo, nomeadamente a nível do trato gastrointestinal (Bento, 2011).

Os benefícios trazidos pela ingestão de fibra a partir do consumo de dreche ou dos seus derivados são conhecidos, nomeadamente na aceleração do trânsito intestinal, aumento da massa fecal total, redução do colesterol, aumento da excreção da matéria gorda, prevenção no aparecimento de pedras na vesícula biliar, prevenção de obstipação, aumento da saciedade, redução do risco de diabetes tipo 2, redução de doenças cardiovasculares, prevenção e tratamento de diverticuloses e controlo de diabetes tipo 1 (Mira et al., 2009; Fastnaught et al., 2001).

As fibras alimentares, segundo a American Association of Cereal Chemists (1999), são a porção de plantas ou hidratos de carbono resistentes à digestão e absorção no intestino delgado humano e que fermentam completa ou parcialmente no intestino grosso. Estas fibras incluem polissacáridos, lenhina, oligossacáridos e substâncias associadas de plantas que promovem benefícios fisiológicos (Mira et al., 2009).

De acordo com a sua solubilidade em água, a fibra alimentar é classificada como solúvel ou insolúvel e a sua actividade a nível fisiológico é determinada com base da sua solubilidade (Brennan, 2005; Catalina et al., 2003).

Fibras insolúveis

As fibras insolúveis são responsáveis pela formação de volume fecal, são lentamente fermentadas no colón e não são viscosas. Actuam sobretudo no intestino grosso acelerando o trânsito colónico e produzindo fezes macias (Harber, 1997).

As fibras insolúveis são a celulose, parte da hemicelulose e lenhina. A celulose é constituída por uma cadeia não ramificada, com pontes de hidrogénio e conformação molecular cristalina envolvida pela matriz da parede celular, sendo por isso pouco solúvel em água. As

hemiceluloses encontram-se junto à celulose, à lenhina e à pectina na parede celular dos vegetais e o grau de solubilidade é atribuído pela presença de moléculas de xilose. A lenhina, por sua vez, apresenta uma estrutura tridimensional complexa e hidrofóbica (Mira et al., 2009).

Fibras solúveis

As fibras solúveis têm a capacidade de retenção de água e têm a propriedade de formar géis em solução aquosa. Na indústria alimentar, têm a característica de alterar a viscosidade dos produtos e por isso também são chamadas de gomas ou hidrocolóides (Brennan, 2005). Quando no estômago e no intestino delgado, estas fibras aumentam a viscosidade do bolo alimentar, diminuindo a actividade de algumas enzimas digestivas, influenciando directamente na taxa de digestão e absorção de nutrientes. Esta influência está directamente ligada à moderação da glicémia pós prandial e resposta insulínica, redução do colesterol e regulação do apetite (Mira et al., 2009).

Entre as fibras solúveis, encontram-se as pectinas, β -glucanas e parte das hemiceluloses.

Pectinas

As pectinas apresentam uma extensa cadeia de moléculas parcialmente esterificadas de ácido galacturónico e metil-galacturónico e são solúveis em água. É uma fibra estrutural, encontrada na parede celular e na camada intracelular de vegetais e a sua solubilidade está associada ao grau de maturação do vegetal. Tem alta capacidade de reter água e formar gel, é completamente fermentada no cólon e pode unir-se a iões e material orgânico, como a bile. Atribui-se à pectina o efeito de esvaziamento gástrico (Mira et al., 2009).

β -glucanas

Os comprimidos e pós à base de β -glucanas têm a capacidade de provocar a sensação de estômago reconfortado, fazendo com que a pessoa tenha menos apetite, tornando-os num aliado ideal para quem pretende perder peso. Existem poucos estudos que comprovam a sua eficácia. Não havendo muitos estudos dos seus riscos para estes efeitos, os efeitos secundários não estão bem definidos (Park e Sifferlin, 2014).

As β -glucanas são as fibras responsáveis pela diminuição do colesterol, o que já foi estudado e aprovado pela FDA. Os alimentos que contém pelo menos 0.75g de β -glucanas/porção podem reduzir o risco de doenças do coração (FDA, 2011).

1.4. Aplicações da dreche

Apesar de a dreche ser o principal subproduto do processo de produção de cerveja, tem recebido pouca atenção como matéria prima para outros processos e a sua eliminação pode ser um problema ambiental. Atendendo sempre à sua composição química (tabela 3), pode ser valorizada como matéria-prima. Variadas aplicações podem ser atribuídas a este subproduto agro-industrial (Mussato et al., 2006).

A Heineken desenvolveu um processo que separa a dreche em duas fracções, a de proteínas e a de fibras. O extracto constituído por proteínas e gorduras e baixo teor de fibras é adequado à alimentação dos não ruminantes, como suínos e aves, por sua vez, o extracto rico em fibras e pobre em proteínas pode ser usado na produção sustentável de energia térmica (Heineken et al., 2010).

1.4.1. Nutrição animal

A dreche pode ser usada na alimentação animal imediatamente após a sua obtenção do processo de produção de cerveja, onde é separada do mosto, ou pode também ser usada como material seco. De acordo com Huige (1994), a dreche é um excelente ingrediente para os ruminantes, desde que combinado com fontes de azoto de baixo custo, como a ureia, para fornecer aos animais todos os aminoácidos essenciais. Acrescentando a este elevado valor nutricional, a dreche tem sido reportada, no aumento da produção de leite, sem afectar a fertilidade do animal. (Belibasakis e Tsirgogianni, 1996; Reinold, 1997; Sawadogo et al., 1989). Quando a dreche foi introduzida na dieta de vacas, o rendimento do leite, o conteúdo sólido total no leite e o rendimento da gordura do leite aumentaram. Por outro lado, a concentração de glucose, proteína total, albumina, ureia, triacilglicerois, colesterol, fosfolípidos, sódio, potássio, cálcio, fósforo e magnésio no plasma sanguíneo, não foram afectados (Belibasakis e Tsirgogianni, 1996).

A dreche tem tido como uso principal a alimentação diária de gado leiteiro, mas devido à sua riqueza proteica, fibrosa e energética, tem sido alvo de vários estudos para a sua aplicação na alimentação de outro tipo de animais, como aves domésticas, porcos e peixes (ver tabela 5) (Mussato et al., 2006).

A dreche foi avaliada para substituição do farelo de arroz na dieta dos peixes e observou-se que os peixes alimentados com uma dieta contendo farelo de arroz e 30% de dreche obtinham

um maior peso corporal quando comparados com peixes alimentados só à base de farelo de arroz. De acordo com os autores deste estudo, o melhor desenvolvimento no crescimento deve-se ao aumento do conteúdo proteico e aminoácidos essenciais provenientes da dreche (Kaur e Saxena, 2004).

Tabela 5 – Exemplos de utilização de dreche na alimentação de várias espécies de animais (Mussato et al., 2006)

Animais	Referência
Ratos	Hassona, 1993; Kanauchi e Agata, 1997; McIntosh et al., 1993, 1996
Hamsters	Zhang et al., 1990, 1992
Galinhas	Gondwe et al., 1999; Kratzer e Earl, 1980; McIntosh et al., 1995; Oh et al., 1991
Vacas	Batajoo e Shaver, 1994; Belibasakis e Tsirgogianni, 1996; Chiou et al., 1998; Cozzi e Polan, 1994; Dhiman et al., 2003; Firkins et al. 2002; Gallo et al. 2001; Karikari et al., 1995; Sawadogo et al., 1989; West et al., 1994
Peixes	Kaur e Saxena, 2004; Muzinic et al., 2004; Shimeno et al., 1994; Yamamoto et al., 1994
Porcos	Dung et al., 2002; Yaakugh et al., 1994

1.4.2. Nutrição humana

A dreche tem sido também avaliada para a produção de cereais, pão de trigo, biscoitos e *snacks* aperitivos. No entanto, é demasiado granulada para ser usada directamente na alimentação, tendo por isso de ser convertida em farinha primeiro (Hassona, 1993; Miranda et al., 1994; Öztürk et al., 2002).

Uma farinha de alto valor proteico, preparada a partir da dreche, foi incorporada com sucesso numa determinada quantidade de produtos de padaria, incluindo pão, *muffins*, bolachas, cereais mistos, pães com fruta e vegetais, bolos, *waffles*, panquecas, tortilhas, *snacks*, *donuts* e *brownies* (Huige, 1994; Townsley, 1979).

Existem algumas limitações em usar a farinha de dreche como aditivo proteico ou como substituto parcial das farinhas presentes devido à sua cor e sabor. A dreche é mais acastanhada quando húmida e portanto, só pode ser usada em produtos não brancos, como biscoitos ligeiramente coloridos, bolos, pão, ou esparguete feitos inteiramente a partir de farinha integral. Também devido às alterações de sabor e propriedades físicas (principalmente a textura) no

produto final, só pode ser introduzida em pequenas quantidades (5 – 10%). (Hassona, 1993; Miranda et al. 1994; Townsley, 1979).

Foi feito um pão com alto teor de fibra, contendo dreche e avaliada a sua aceitação pelo consumidor, por Prentice e D’Appolonia (1977). A dreche foi finamente moída e tratada com aquecimento a 45, 100 ou 150°C, e substituiu a farinha branca da receita de pão convencional nas proporções 5, 10 e 15%. O pão, contendo dreche tratada com aquecimento a 45°C e a níveis de substituição da farinha por dreche de 5 e 10%, foi positivamente aceite. Já os pães, com a dreche tratada com aquecimento a 100 e 150°C não foram aceites, pois as elevadas temperaturas originaram sabores desagradáveis no produto final.

A adição de dreche aos pães, melhora o valor nutricional dos mesmos (Hassona, 1993). A adição de 10% de dreche aumenta os teores de proteínas e aminoácidos presentes para 50 e 10% respectivamente, e duplica o teor de fibra quando comparado com o pão tradicional sem dreche. Adicionalmente, também se verifica uma redução de cerca de 7% das calorias quando novamente comparado ao pão tradicional. A densidade calórica da dreche é cerca de metade em relação à maioria dos outros cereais (Huige, 1994). Podem-se verificar algumas das propriedades da farinha de dreche na alimentação na tabela 6.

No geral, a dreche é uma fonte económica de proteínas e fibras que pode fornecer uma quantidade de benefícios quando introduzido na dieta humana. Por esta razão, é um ingrediente alimentar importante, especialmente nos países subdesenvolvidos onde subsiste uma pobre e má nutrição.

Tabela 6 – Propriedades da farinha de dreche nos alimentos (Mussato et al., 2006).

1	Fácil de misturar
2	Metade das calorias quando comparado com a maioria dos cereais
3	Elevada capacidade de absorção de água
4	Fornece minerais valiosos como Ca, P, Fe, Cu, Zn e Mg
6	Cor acastanhada uniforme, sabor suave, e um aroma ligeiramente tostado
7	Elevado teor de fibra
8	Elevado teor de proteína

1.4.3. Produção de energia

Por combustão directa ou gaseificação, é possível obter energia a partir da dreche, obtendo assim uma fonte alternativa de energia sem efeitos adversos para o ambiente (Okamoto et. al, 1999).

A dreche pode ser usada para produzir biogás por combustão ou fermentação (uma mistura de 60 – 70% metano, dióxido de carbono e pequenas quantidades de hidrogénio, azoto e monóxido de carbono). (Ezeonu e Okaka, 1996; Okamoto et al., 1999; Reinold, 1997).

Uma alternativa para produção de energia a partir da dreche é por fermentação anaeróbica, que apenas é eficiente se for dividida numa fase hidrolítica e metanogénica. A hidrólise do material fibroso da dreche é um passo limitativo para a completa degradação do material. Contudo, existem várias possibilidades diferentes de pré-tratamento para melhorar a taxa de fermentação, incluindo tratamentos químicos com NaOH a 0.2M a 70°C, esmagado por um rotor de trituração molhado, ou esferas de moagem, bem como tratamento enzimático com fungos produtores de celulase, com a dreche como único substrato (Rieker et al., 1992). Na fase metanogénica, os microrganismos acidogénicos convertem complexos de macromoléculas em ácidos gordos voláteis, acetato, butirato e propionato, e subsequentemente, as bactérias metanogénicas convertem estes ácidos voláteis em metano (Ezeonu e Okaka, 1996).

Behmel et al. (1993) optimizaram o pré-tratamento hidrolítico da dreche ao melhorar a viabilidade económica da produção de biogás.

A combustão e produção de biogás a partir da dreche tem sido avaliada como alvo de reciclagem na própria indústria cervejeira. A tecnologia do biogás é especialmente adequada para obter energia térmica nas cervejeiras (Petricek e Fort, 1998).

Considerando a actual crise energética, o recurso à dreche como fonte de energia pode ser uma alternativa bastante interessante.

1.4.4. Produção de carvão

Okamoto et al. (2002) desenvolveram um processo que utiliza dreche para produção de tijolos de carvão a partir da dreche e avaliaram as suas propriedades físicas e químicas. Neste processo, a dreche (67% teor de água) foi seca, prensada e carbonizada numa atmosfera com baixos níveis de oxigénio. Os tijolos de carvão, então produzidos, contêm vários minerais como o cálcio, magnésio e fósforo, e tem um elevado valor calorífico (27MJ/Kg), que foi

positivamente comparado com os valores caloríficos de carvão produzido a partir de outras matérias-primas (tabela 7). Sato et al. (2001) também produziram carvão a partir da dreche e avaliaram as suas propriedades físicas (teor de humidade e cinzas, matéria volátil, carbono fixo e área superficial específica) e as propriedades de combustão. De acordo com estes autores, o carvão de dreche contém 81% de carbono fixo e 12% de cinzas (compostas por 47% de P, 22% Ca, 14% de Mg, 13% Si, entre outros). As análises térmicas mostram que, em propriedades de combustão, o carvão de dreche é inferior ao carvão de serradura.

Tabela 7 – Valores caloríficos de carvões produzidos a partir de diferentes matérias-primas (Mussato et al., 2006).

Matéria – prima	Valor calorífico Do carvão (MJ/kg)	Referência
Madeira	25,5	Ffoulkes et al., 1980
Dreche	27,0	Okamoto et al., 2002
Cana-de-açúcar	29,3	Ffoulkes et al., 1980
Bagaço de uva	30,0	Encinar et al., 1996
Bagaço de azeitona	31,0	Encinar et al., 1996
Casca de avelã	32,0	Demirbas, 1999

1.4.5. Componente para materiais de construção

O reduzido teor de cinzas na dreche e a elevada quantidade de material fibroso (celulose, polissacáridos não celulósicos e lenhina) tornam-no adequado para ser usado em material de construção (Russ et al., 2005). Quando a dreche é usada para aumentar a porosidade dos tijolos, ela também vai melhorar as suas características secas, mas não influencia na cor, nem compromete a qualidade do tijolo, e também não requer alterações no processo de operação. É por isso um potencial substituto à serradura que é usada normalmente no fabrico de tijolos para aumentar a porosidade.

1.4.6. Fabrico de papel

Na indústria do papel, tem sido usada dreche para produzir toalhas de papel e cartões, o que só é possível graças à sua natureza fibrosa (Ishiwaki et al., 2000).

1.4.7. Adsorvente/Remoção de metais pesados

O processo de adsorção deve de ser rápido, eficiente e usar adsorventes baratos para competir com outras técnicas. Devido ao seu baixo custo e elevada disponibilidade, a dreche tem sido testada como um adsorvente de diversos tipos de compostos. Grãos usados pirolisados foram utilizados como adsorvente na remoção de compostos voláteis orgânicos (VOCs) de resíduos gasosos (Chiang et al., 1992). A capacidade de adsorção dos VOCs pela dreche pirolisada é similar à do carvão de casca de côco. A dreche adsorve cádmio e chumbo a partir de soluções aquosas (Low et al., 2000). O tratamento da dreche com NaOH melhorou muito a adsorção de metal quando comparado com a dreche lavada com água. A dreche também removeu com sucesso crómio de uma solução aquosa (Low et al., 2001). Na tabela 8 pode-se ver a capacidade de adsorção da dreche para o cádmio, chumbo e crómio comparado positivamente com valores reportados de outros materiais biológicos de baixo custo.

O corante de ácido de laranja 7 (AO7), que é um corante ácido monoazóico vulgarmente usado nas indústrias do papel e têxtil, cuja presença nos efluentes causa problemas ambientais, é removido pela dreche (Silva et al., 2004), uma alternativa de adsorção de baixo custo para remover corantes de processos de tratamento de águas residuais.

Tabela 8 – Capacidade de adsorção de alguns materiais de baixo custo para o cádmio crómio e chumbo (Mussato et al., 2006).

Ião	Material	Capacidade de adsorção (mg/g)	Referência
Cádmio	Casca de côco	11,1	Budinova et al., 1994
	Casca de pinheiro	14,2	Aj-Asheh e Duvnjak, 1998
	Xaxim	16,3	Ho e Wang, 2004 ^a
	Dreche	17,3	Low et al., 2000
	Farelo de trigo	21,0	Farajzadeh e Monji, 2004
Crómio	Bagaço de Cana de açúcar	13,4	Sharma e Forster, 1994
	Polpa de beterraba	17,2	Sharma e Forster, 1994
	Casca de avelã	17,7	Cimino et al., 2000
	Folhas de <i>Casuarina Equisetifolia</i>	18,6	Ranganathan, 2000
	Dreche	18,9	Low et al., 2001
Chumbo	Casca de côco	26,5	Sekar et al., 2004
	Musgo de Turfa	30,7	Ho et al., 1996
	Dreche	35,5	Low et al., 2000
	Casca de amendoim	39,4	Okieimen et al., 1991
	Xaxim	40,0	Ho et al., 2004b

1.4.8. Processos biotecnológicos

A dreche, rica em polissacáridos, proteínas associadas e minerais, é um substrato de elevado valor biotecnológico.

1.4.8.1. Substrato no cultivo de cogumelos

A dreche foi utilizada com sucesso como substrato no cultivo de espécies de *Pleurotus*, *Agrocybe* e *Lentinus*. A dreche possui uma boa eficiência biológica e um alto valor nutricional enquanto substrato para o *Pleurotus ostreatus*, especialmente usando dreche lavada com água. Foi proposto como justificação para o favorecimento do crescimento destes cogumelos não apenas do alto teor de proteína mas também o elevado teor de humidade e as propriedades físicas, como tamanho de partícula, peso do volume, densidade específica, porosidade e capacidade de retenção da água (Mussato et al., 2006; Townsley et al., 1979).

1.4.8.2. Substrato na produção de enzimas

Farelos de cereais com composição e estruturas físicas comparáveis à dreche tem sido amplamente usados na produção de enzimas comerciais na chamada Koji, ou fermentação de estado sólido, e por isso a dreche também tem sido analisada nesse sentido. A dreche é uma fonte de azoto e energia adequada à produção de xilanases pelo fungo filamentoso *Aspergillus awamori*, no entanto, para a produção de protease é necessário o fornecimento de uma fonte adicional de azoto, como a peptona de protease (Mussato et al., 2006).

Também foi reportada a produção de α -amilase produzida por *Bacillus subtilis* e *B. Licheniformis* cultivados em dreche. O rendimento da α -amilase é superior quando a fonte de azoto provém da dreche quando comparado com milho macerado ou $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. A dreche também é um melhor substrato do que a fibra de milho, para produção de α -amilase por *Aspergillus oryzae* (Mussato et al., 2006).

A dreche pode ser usada como substrato sem tratamento ou ajustes adicionais para a produção de enzimas do complexo de celulase por *Trichoderma reesei* (Mussato et al., 2006).

1.4.8.3. Aditivo ou suporte no processo de produção de cerveja

Com vista à sua reutilização no processo de produção de cerveja, a dreche tem muita utilidade se for usada como extracto concentrado no fermentador, actuando como anti-espuma sem alterar a qualidade da cerveja (Mira et al., 2006).

Dreche sequencialmente pre-tratada com soluções de HCl e NaOH foi avaliada como suporte de levedura de cerveja imobilizada (*Saccharomyces uvarum*). O suporte obtido à base

de celulose, foi muito eficiente, devido à elevada capacidade de carregamento de levedura, determinada pelas características físico-químicas e bioquímicas de ambas as células e superfície do suporte. A dreche tem uma forma irregular e uma composição química não homogênea, fornecendo sítios ativos que são rapidamente colonizados pela levedura. É considerada uma alternativa promissora para a imobilização de leveduras quando comparada a outros materiais, designados por 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 (Mussato et al., 2006).

A preparação de dreche também foi avaliada para imobilização celular noutros processos biotecnológicos como produção de pectinase por *Kluyveromyces marxianus* CCT 3172 (Mussato et al., 2006).

1.4.8.4. Fonte de produtos de valor acrescentado

A parede celular dos resíduos de grãos de cevada na dreche, é rica em celulose e polissacáridos não-celulósicos, em particular arabinoxilanas, e também em resíduos de (1→3, 1→4)-β-glucanas e ainda algum amido não convertido, que dependem do tipo de célula, se também estão associadas covalentemente ou não covalentemente à lenhina. Os polissacáridos da parede celular podem ser degradados nos seus constituintes correspondentes por procedimentos de hidrólise (hidrotérmicos, enzimáticos ou ácidos). Na hidrólise, a celulose produz glucose e os polissacáridos não-celulósicos, xilose, manose, galactose e arabinose, assim como o ácido acético e também ácidos hidroxicinâmicos. Alguns destes produtos têm interesse industrial como precursores de produtos químicos para utilização alimentar ou como fontes de energia para fermentações microbianas (Mussato et al., 2006).

O fracionamento destes materiais através de processos hidrotérmicos, processos que utilizam exclusivamente água a temperaturas da ordem do 150°C (60-120 min) conduz à hidrólise seletiva da hemicelulose. Neste caso, a hidrólise ocorre por ação dos iões H_3O^+ provenientes quer da auto-hidrólise da água quer da auto-ionização do ácido acético presente na estrutura da hemicelulose (arabinoxilanos). (Kabel et al., 2002), produzindo uma variedade de (arabino)xilooligossacáridos com diferentes características estruturais, cujo o peso molecular depende da temperatura de autohidrólise e do tempo de reacção (Carvalho et al., 2004a). A maior sensibilidade térmica dos resíduos de arabinoseo, comparativamente aos

dexilose, permite a libertação de grandes quantidades de arabinose livre quando a temperatura do processo é aumentada, e maiores quantidades de xilo-oligossacáridos.

Os ácidos hidroxicinâmicos (ácido ferúlico e ácido ρ -coumárico), presentes na dreche, também têm um potencial interessante para utilização na indústria alimentar (Mussato et al., 2006).

Uma alternativa ao o processo que utilizam exclusivamente água (auto-hidrólise) são os processo de hidrólise ácida, nomeadamente a a hidrólise com ácido sulfúrico diluído. Neste caso são produzidos hidrolisado ricos em açúcares (na forma monomérica), que quando neutralizado permitem o crescimento de microrganismos com rendimentos em biomassa elevados. Um exemplo, é a fermentação destes hidrolisados pela levedura *Debaryomyces hansenii* (Carvalho et al., 2004b), uma levedura com capacidade de utilizar pentoses, como fonte de carbono e energia, convertendo-as em políols, nomeadamente o xilitol.

O xilitol, consiste num edulcorante de baixo valor calórico e não cariogénico que constitui uma importante alternativa à sacarose podendo ser utilizados como adoçante variadas aplicações na indústria alimentar ou em produtos de higiene e cosmética (por exemplo em pastas de dentes) (Carvalho et al., 2005; Duarte et al., 2004).

1.5. Armazenamento

A dreche proveniente da tina de decantação contém 77-81% (p/p) de água. Esta elevada humidade e aos açúcares fermentescíveis contidos, fazem da dreche um material muito instável e passível de ser deteriorado rapidamente devido à actividade microbiana. Após isolado, em sacos de sarapilheira durante 30 dias, encontraram 8 isolados de *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* e *Rhizopus*. Vários métodos têm sido propostos para prolongar o tempo de armazenamento da dreche. Misturas de dreche com água e ácido láctico, fórmico, acético ou benzóico, empacotados em recipientes plásticos e mantidos durante os três meses de verão, todos efectivamente preservam a qualidade e o valor nutricional da dreche. Dos ácidos, o benzóico e o fórmico são os mais eficazes. Sorbato de potássio também é eficaz na preservação de dreche prensada (Mussato et al., 2006).

Foram avaliados três métodos de preservação da dreche, a liofilização, a secagem na estufa e o congelamento. A secagem é uma possível alternativa na preservação da dreche, com a vantagem de também reduzir o volume do produto, que induz à redução de custos de transporte e armazenamento. O método tradicional para secagem da dreche é baseado no uso

directo de secadores de cilindros giratórios, um procedimento considerado de elevados gastos energéticos. O congelamento é inapropriado, tendo em conta que grandes volumes teriam que ser armazenados e alterações no teor de arabinose podiam ocorrer. A preservação por secagem e liofilização reduzem o volume do produto e não alteram a sua composição. Contudo, a liofilização é economicamente inviável. A secagem em estufa deve ser feita com uma temperatura na ordem dos 60°C, porque a temperatura superiores originam-se sabores indesejáveis. Na secagem em estufa, existe o risco da temperatura do grão subir levando à torra ou queima dos grãos secos. Adicionalmente, também o fumo provocado pelas pilhas a secar causa problemas de poluição de cheiro. Um método de secagem alternativo que pode poupar recursos energéticos é o uso de vapor super aquecido que reivindica vantagens adicionais incluindo redução do impacto ambiental, melhoria na eficiência de secagem, eliminação do risco de incêndio ou explosão e melhora a recuperação de compostos orgânicos valiosos (Mussato et al., 2006).

Num estudo numa instalação piloto, foram usados filtros de membrana para alcançar maiores níveis de secagem do bolo de dreche. No processo, a dreche foi misturada com água e filtrada à pressão alimentar de 3 – 5 bar, lavada com água quente a 65°C, filtrado por membrana, e seco a vácuo, para atingir níveis de humidade entre os 20 e os 30%. Não foi detectada actividade microbiana após armazenar o bolo de dreche em ar aberto, passados 6 meses (Mussato et al., 2006).

1.6. Ensilagem

A dreche é uma matéria-prima de baixo custo e elevado poder nutritivo, pelo que tem sido sugerida como alternativa sustentável a nível mundial (Faustnaught et al., 2001). A ensilagem é uma ferramenta de manuseamento, que permite aos produtores controlar os recursos alimentares (forragens, resíduos de colheita, sub-produtos industriais, etc) para os rebanhos leiteiros. O principal objectivo da ensilagem é a preservação e armazenamento do alimento para uso posterior com o mínimo possível de perdas de qualidades nutritivas (Wattiaux, sd).

A necessidade de armazenar alimentos para usar mais tarde não é recente, pois existem pinturas egípcias no museu de Naples, em Itália, datado de 1000-1500 a.C. que mostram o armazenamento de comida no que parecem ser silos de pedra (Vanbelle, 1985).

Na agricultura animal, o método mais usado para conservar excesso de pasto é a fenação, no entanto, tem vindo gradualmente a ser substituída pela ensilagem, por ser menos dependente das boas condições de tempo e pode ser aplicada numa vasta gama de colheitas de forragem (milho, sorgo, grãos de cereais imaturos, etc.) e sub-produtos agro-industriais locais disponíveis (como a polpa de beterraba, dreche, etc.). Actualmente a prática de ensilagem evoluiu paralelamente com o sucesso do milho como uma cultura de alto rendimento que é preservado com muita facilidade num silo. As dificuldades vêm quando se fala na ensilagem de outras colheitas de forragem que não são tão facilmente preservadas como silagem, em particular os legumes (Wattiaux, sd).

Contudo, a ensilagem requer um capital considerável e investimento laboral nas quintas, exige a procura de técnicos experientes a um nível considerável. O conhecimento do funcionamento da ensilagem para preservar colheitas por fermentação é muito importante, sendo a chave para tomar as melhores decisões de modo a minizar as perdas inevitáveis que ocorrem quando alimentos frescos são ensilados e preservados em silos durante um longo período de tempo (Wattiaux, sd).

Uma vez que a ensilagem permite conservar as fontes de alimento durante meses, senão mesmo anos, os produtores podem focar-se em dois objectivos separados:

- Maximizar o rendimento dos nutrientes digestivos (energia, proteína, etc) por hectare de terra;
- Maximizar a produção de leite por vaca durante o ano.

Apesar de separados, estes objectivos estão interligados, uma vez que a produção, a colheita e a preservação de forragens de alta qualidade são a chave para o desenvolvimento de um programa alimentar que permite a melhoria no desempenho das vacas (Wattiaux, sd).

Um factor muito importante para uma boa ensilagem, é a razão entre o carbono total sobre o azoto total contido no material orgânico. As bactérias, como todos os organismos vivos, necessitam de bastante carbono e relativamente pouco azoto. Ao fornecer-lhes compostos que disponibilizem esses elementos na proporção correcta, as bactérias crescem e multiplicam-se. A relação C/N de um resíduo no início da compostagem deverá de ser entre 25 a 35.

À medida que o depósito do silo é enchido, cada camada de forragem fresca picada é compactada, de forma a expulsar a maior quantidade possível de ar. A ausência de oxigénio permite o crescimento de bactérias lácticas pela conversão dos açúcares existentes (açúcares simples e amido) em ácido láctico, que é um forte ácido orgânico. Com o crescimento das bactérias lácticas, o ácido láctico vai acumulando na massa ensilada e a acidificação aumenta,

ou seja, o pH diminui. Com a descida do pH, a acção de degradação de enzimas das plantas, das bactérias indesejáveis (clostridia e enterobactéria), das leveduras e bolores abrandam. Quando o pH é suficientemente baixo (pH de 3.8-4.7, conforme a matéria ensilada) a maioria das enzimas degradativas são inibidas mas o crescimento de bactérias lácticas não é inibido (Wattiaux, sd).

Concluindo, o objectivo da ensilagem é retirar o oxigénio da massa de forragem, para induzir a fermentação dos açúcares pelas bactérias lácticas e baixar o pH o mais rápido possível para parar todas as formas de actividades degradativas (Wattiaux, sd).

A composição química das colheitas de forragens ou dos sub-produtos agro-industriais desempenham um papel muito importante na determinação da facilidade com que as bactérias lácticas iniciam a fermentação, e também a facilidade com que cada alimento pode ser preservado por ensilagem. É mais fácil ensilar forragens que tenham:

- Elevado nível de açúcares fermentescíveis;
- Baixo teor de proteína;
- Baixa capacidade tampão;
- Teor de matéria seca ideal para o tempo de ensilagem.

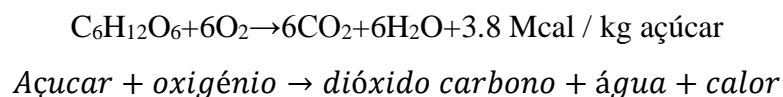
Conforme indicado na tabela 9, o milho pode ser preservado por ensilagem mais facilmente do que outras gramíneas, devido ao seu elevado teor de açúcares, baixo teor proteico e baixa capacidade tampão. Por sua vez, as leguminosas, como a luzerna, são mais difíceis de ensilar, porque têm baixo teor de açúcares e alta capacidade tampão, o que se deve em parte ao elevado teor proteico. Deste modo, a melhor qualidade da luzerna, aumenta o desafio de conseguir uma ensilagem de sucesso (Wattiaux, sd).

Tabela 9 – Composição química e capacidade tampão das forragens de colheita típicas. (Wattiaux, sd)

	Hidratos de carbono Solúveis em Água(g/kgDM)	Proteína Bruta (% DM)	Racio ½	Capacidade Tampão	Aptidão p/ ser ensilado
Milho	80 – 300	80 – 100	1.0 – 3.0	150 – 300	Alta
Outras gramíneas	35 – 300	100 – 160	0.4 – 1.8	250 – 550	Média
Luzerna	20 – 150	140 – 200	0.1 – 0.75	350 - 650	Baixa

A ensilagem é um confronto entre as bactérias boas e más que resulta numa silagem bem ou mal preservada. O resultado depende não só das características da forragem como também em grande parte das práticas seguidas durante o processo de ensilagem. No silo, devem ocorrer as seguintes fases:

- **Fase 1** - Respiração: que degrada os nutrientes da planta na presença de oxigénio (1 a 2 dias). Quando a planta é cortada e as células perdem as suas estruturas, elas continuam a consumir oxigénio de acordo com a equação:



Esta equação indica que a respiração converte açúcar em dióxido de carbono (gás), água (líquido) e calor. Assim a respiração resulta numa perda de matéria seca e energia disponível. Adicionalmente, o calor libertado pela respiração aumenta a temperatura da forragem. Temperaturas superiores a 26 – 32 °C podem causar perdas significativas dos nutrientes. Investigações indicam que a subida de temperatura não é tão elevada em silos bem compactados como em silos fracamente compactados (Pitt, 1983). Uma rápida expulsão do oxigénio é desejável para reduzir a duração da fase de respiração e conseqüente perda de nutrientes. A fase de respiração apenas dura enquanto existe oxigénio, pelo que, quanto melhor compactado estiver o silo, mais curta será esta fase (Wattiaux, sd).

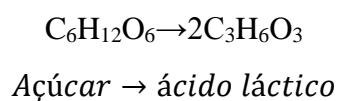
- **Fase 2** - Fermentação precoce, que produz ácido acético, ácido fórmico e outros ácidos orgânicos como resultado do crescimento facultativo de bactérias aeróbicas como as enterobactérias, que podem viver na presença ou ausência de oxigénio (1 a 2 dias). Muitas vezes conhecida por fase lag ou de dormência. O destino da silagem depende em grande parte do resultado desta fase crítica de fermentação (Wattiaux, sd).

Existem cerca de 10^7 a 10^{10} microrganismos/g de forragem fresca colhida e a maioria são indesejáveis para o processo de preservação da silagem. A maioria destes microrganismos requerem oxigénio para crescer, uma vez que são bactérias estritamente aeróbicas. Assim, uma redução do oxigénio na silagem como resultado da compactação numa ‘selecção natural’ e decréscimo no tipo de bactérias que necessita de oxigénio para crescer (Wattiaux, sd).

Com o oxigénio removido e a fermentação iniciada, as bactérias que se tornarão predominantes serão aquelas que tenham a capacidade de crescer quer na presença quer na ausência de ar (bactérias aeróbicas facultativas). Este grupo inclui as enterobactérias, que convertem os açúcares numa variedade de ácidos orgânicos (ácido fórmico, ácido acético, ácido láctico e por vezes ácido butírico), dióxido de carbono (CO_2) e hidrogénio (H_2). Estes ácidos são responsáveis pela diminuição do pH no silo (Wattiaux, sd).

Como procedimento de fermentação, as enterobactérias tornam-se menos competitivas devido à sua particular sensibilidade à descida de pH. O crescimento das enterobactérias é inibida quando o pH atinge os 4.5, o que ocorre passado poucos dias após a ensilagem. No entanto, as enterobactérias tendem a persistir por períodos maiores em silagens onde o pH diminui lentamente, como é o caso de silagens secas (Wattiaux, sd).

- **Fase 3** - Fermentação ácido-láctica, pelas LAB que são microaerófilas, ou seja, crescem e multiplicam-se rapidamente com diferentes percentagens de oxigénio (inferior ao oxigénio do ar) (14 dias). As LAB começam a dominar o processo de fermentação após o pH da silagem baixar os 5.5-5.7 (de 6.5 – 6.7 no tempo de ensilagem). Poucas espécies de LAB sobrevivem à presença de oxigénio, mas a maioria são microaerófilas, significando que o oxigénio não é tóxico para elas. A reacção que descreve a fermentação láctica é simples, uma unidade (molécula) de açúcar é partida em duas unidades (moléculas) de ácido láctico:



Algumas espécies de LAB (como indicado na equação em cima), são chamadas de bactérias homofermentativas. No entanto, outras espécies de LAB, chamadas de bactérias heterofermentativas, produzem ácido láctico e outros produtos finais como ácido acético, álcool (etanol) e dióxido de carbono. Espécies homofermentativas são preferíveis para a silagem porque produzem mais ácido láctico, que é mais forte e reduz o pH mais que o ácido acético. Na realidade, conforme o pH, o ácido láctico torna-se no produto final maioritário da fermentação. Uma produção adequada de ácido láctico depende de 3 factores:

- Número de LAB presentes na altura de ensilagem;
- A presença de uma quantidade suficiente de açúcares fermentescíveis;
- A ausência de oxigénio na silagem.

O número de LAB presentes na altura de ensilagem pode variar de 1,000 até cerca de 20,000,000 por grama de forragem fresca e não pode ser controlado facilmente com decisões de gestão (Wattiaux, sd).

- **Fase 4** - Fase de estabilização devido à presença de ácido láctico, que inibe degradações adicionais (período indefinido). Após cerca de 14 dias de fermentação, uma boa silagem contém 1.5 – 2% de ácido láctico, pH entre 3.5 - 4.2. A fase estável deve durar meses ou até anos, enquanto o silo estiver fechado e protegido do oxigénio. Por isso é importante envolver o silo numa folha de plástico para selar e reduzir o nível de permeação de ar. Maiores perdas de matéria seca podem ocorrer devido a uma fraca protecção (Wattiaux, sd).

Existem outras duas fases indesejadas, que ao ocorrerem causam importantes perdas na matéria seca e diminuem a qualidade na silagem:

- Fermentação ácido-butírica por clostridio (ou bactéria ácido butíricas), que pode ocorrer se a fermentação láctica falhar ao produzir ácido láctico insuficiente para estabilizar a silagem. O risco desta contaminação aumenta se a silagem estiver suja com lixo (como sólidos das rodas dos tratores) ou estrume. A clostridia também tende a crescer a temperaturas de cerca de 35°C, o que é acima da maioria das bactérias aqui anteriormente faladas. Assim este tipo de fermentação indesejável acontece quando ocorre uma respiração extensiva e fermentação enterobactérica e a temperatura de silagem aumenta em fases iniciais do processo de fermentação. Algumas espécies de clostrídium fermentam açúcares e alteram o ácido láctico produzido pelas LAB em ácido butírico, dióxido de carbono e hidrogénio (Wattiaux, sd).



Açúcar → *ác. butírico* + *dioxido carbono* + *hidrogénio*



ác. láctico → *ác. butírico* + *dioxido de carbono* + *hidrogénio*

A produção de dióxido de carbono e hidrogénio indicam a perda de energia digestível. A quebra do ácido láctico em ácido butírico, que é um ácido mais fraco, significa que o pH da silagem passando por uma fermentação clostridíca tende a aumentar. O ácido butírico tem um forte cheiro repulsivo. Quantidades consideráveis de ácido butírico fazem com que as vacas recusem o alimento (Wattiaux, sd).

Uma silagem estragada por clostrídium é facilmente reconhecida devido ao seu forte odor, ao pH acima de 5.0, azoto amoníacal superior a 10% do azoto total e mais ácido butírico do que ácido láctico (Wattiaux, sd).

Felizmente, a maioria dos clostridiums são mais sensíveis à elevada acidificação e à elevada pressão osmótica (elevados níveis de teor de matéria seca) do que as LAB. Assim a fermentação por clostridiums pode ser evitada por:

- Ensilar com um teor superior a 30% de matéria seca;
- Compactar o silo o mais possível para evitar a subida de temperatura durante a respiração;
- Evitar a contaminação do solo;
- Ensilar forragens com o máximo de teores de açúcar possível;
- Usar técnicas adequadas de ensilagem que favoreçam o máximo de fermentação ao menor pH possível o mais cedo possível.

- Deteriorização aeróbica causada pelos bolores e leveduras que se desenvolvem rapidamente quando a silagem bem preservada é exposta ao oxigénio após abertura do silo. Pode ocorrer no topo do silo, se não estiver bem tapado com uma folha de plástico, localmente em torno de um buraco na protecção de plástico ou quando menos que 10 – 15 cm da silagem é removido diariamente da frente vertical do silo bem conservado. Contudo, a deteriorização aeróbica também pode ocorrer por desenvolvimento de bolores e leveduras. Estes resistem a pH de 2.0 mas permanecem dormentes em silagens estáveis a pH de 4.0 – 4.5. Os bolores precisam de açúcares e oxigénio e podem retomar o seu desenvolvimento rapidamente assim que houver

oxigénio disponível. Por outro lado, as leveduras podem desenvolver-se com ou sem oxigénio e conseguem produzir álcool em silagens ricas em açúcar como a do milho (Wattiaux, sd).

Mais de 60 espécies de bolores foram isoladas das silagens, mas o risco de deteriorização aeróbica depende sobretudo do tipo de forragem ensilada. Paradoxalmente, o risco de desenvolvimento destes microrganismos indesejáveis aumenta com a qualidade de preservação da silagem. O açúcar residual presente na silagem bem preservada é a fonte de energia ideal para os bolores e leveduras. Adicionalmente, a silagem bem preservada contém pouco ou nenhum ácido butírico que é um forte inibidor do desenvolvimento de bolores e leveduras. Assim, após a abertura do silo, uma silagem bem preservada tem maior probabilidade de deterioração por bolores e leveduras do que uma silagem fracamente preservada (Wattiaux, sd).

1.7. Produção de bolachas e outros produtos

Tem sido explorado na indústria da panificação, a utilização de farinhas à base de dreche, para produzir pão e bolachas. É necessário, no entanto, algum cuidado relativamente à sua utilização pois induz uma alteração do cheiro, do aspecto, do sabor e da textura dos alimentos quando usada em maiores quantidades (Ozturk et al., 2002).

Como a dreche é uma matéria rica em fibras e proteínas, resultados similares são esperados face à sua incorporação nos produtos de confeitaria. Foi reportado que a adição de dreche a produtos extrudidos aumentam o teor de fibra dos snacks de 4,8% na amostra de controlo (0% de dreche) até 19,8% em amostras contendo 30% de dreche. Também uma adição de 10% de dreche no pão aumenta a proteína em 50%, o conteúdo de amino ácidos em 10% e duplica a fibra quando comparado com pão tradicional sem dreche. Também se verificou uma redução de 7% nas calorias. A tabela 10 apresenta a composição química da dreche seca usada neste estudo comparando com a farinha de trigo. Devido à sua constituição, a dreche é rica em celulose, polissacáridos não celulósicos, lenhina, proteína e gordura. Na tabela 10 podemos observar que as proteínas, gordura e fibras estão mais concentradas na dreche por a maior parte do amido da cevada ser transformado em açúcares fermentescíveis durante a brassagem. Por outro lado, a dreche também tem um valor de minerais superior e uma diminuição considerável do teor calórico, mais uma vez quando comparada à farinha de trigo. Os oligo e polissacáridos não digestivos, conhecidos como dieta de fibra, são prebióticos devido aos compostos serem resistentes à digestão e absorção no intestino delgado e poderão sofrer fermentação parcial no

intestino grosso. Os prebióticos também afectam benéficamente o hospedeiro ao estimular selectivamente o crescimento e / ou actividade de uma ou de um número limitado de bactérias no cólon e, assim, melhorar a saúde do hospedeiro. Portanto a ingestão de produtos ricos em fibra traz inúmeros benefícios para o tracto gastrointestinal, baixo nível de colesterol LDL, atenua a glicémia e resposta da insulina, diminui o risco de doenças graves como doenças do coração, AVC, hipertensão, obesidade (Farcas et al, 2014).

O consumo diário de fibras deve ser de 20 a 35g ou 10 a 14g/1000Kcal (Mira et al., 2009). O valor recomendado depende do género, idade e consumo energético (Farcas et al, 2014).

Pesquisa científica revelou que a dreche tem imensas características nutricionais desejáveis para a dieta humana. A composição típica da dreche varia mas contempla sempre elevados níveis de fibra e proteína e níveis consideráveis de minerais, polifenóis, vitaminas e lípidos. Estas características de qualidade junto com o seu baixo custo e elevados níveis de disponibilidade fazem da dreche um apropriado e funcional ingrediente alimentar (Farcas et al, 2014).

Tabela 10 - Comparação da composição química entre a farinha de trigo e a farinha de dreche (% peso seco) (Farcas, A., et al, 2014).

	Farinha de trigo	Farinha de dreche*
Humidade	12,1	5,7
Proteína	13,3	18
Fibra	0,6	41,28
Amido	81,06	10,1
Açúcar	0,22	16,11
Gordura	0,59	6,61
Cinza	1,7	3,82
Energia cal/100g	335,43	228,6

* Dreche moída

2. Materiais e Métodos

2.1. Construção do silo

O material usado para fabricar o silo foi o aço inoxidável 316, que é o adequado para estar em contacto com produtos alimentares. Foi concebido para ter uma dimensão de aproximadamente 20 litros.

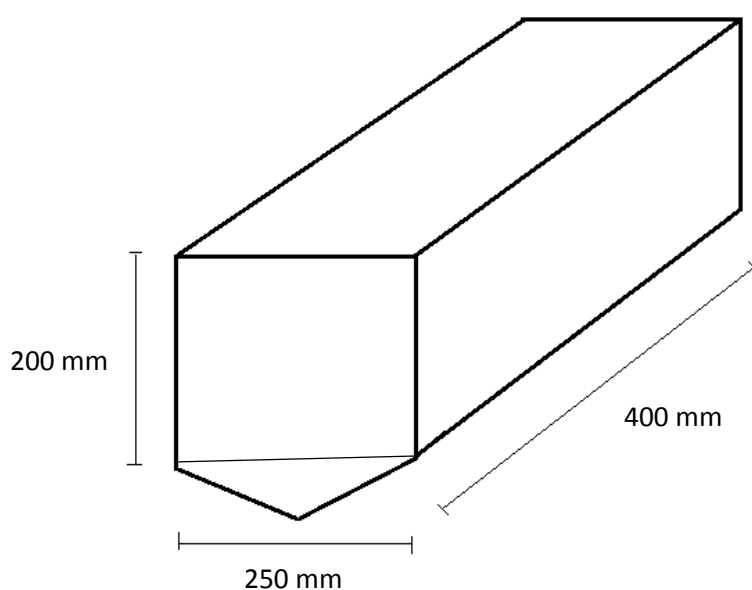


Figura 10: Esquema para fabrico do silo.

Fez-se numa fase inicial uma tampa, também ela em inox 316, com 4 pedaços de varão riscado com cerca de 30 cm, para ir apertando uniformemente e compactando a dreche entre o silo e a tampa, de modo a excluir todo o ar residual.

Como o inox é um material muito pouco flexível, e durante a construção do silo, ocorreram algumas deformações no material, este ficou com superfícies irregulares, a junção entre a tampa e o silo ficou com muitas entradas de ar, pelo que se optou por fazer uma tampa em acrílico com um O-ring de Viton em seu torno, que encaixasse dentro do silo e ajustasse às paredes do silo. Colocaram-se dois espigões na tampa de modo a conseguir manipular, pressionar e mover a tampa. Aquando do processo de ensilagem, colocou-se peso sobre a tampa de modo a que a dreche estivesse constantemente a ser pressionada contra o fundo do silo.

Para trabalhar com a dreche da Sagres, uma vez que esta tem partículas de menor dimensão comparada com a dreche de produção artesanal usada, usou-se uma prateleira em formato de rede no fundo do silo, para que a água tivesse mais superfície para escorrer.

A parte frontal do silo é aberta e é por onde escorre a água em excesso. Durante o processo de ensilagem, essa abertura tem que ser tapada com plástico e fita adesiva, deixando um tubo com a ponta fechada (pois não pode haver nenhuma entrada de ar).

Foi colocada uma sonda de temperatura na zona frontal do silo, de modo a conseguir obter registo da temperatura durante o processo de ensilagem e uma sonda de humidade na tampa, de modo a acompanhar também o valor de humidade.



Figura 11: O silo, na fase experimental, no decorrer de uma ensilagem.

2.2. Preparação e caracterização das amostras

As amostras de dreche fresca, ou são ensiladas ou são congeladas até à altura de serem analisadas. No caso de as amostras serem congeladas, estas terão de ser descongeladas na noite anterior à sua análise.

As dreches usadas foram:

- Da sagres: obtida a partir de água, malte, cereais não maltados e lúpulo. É uma dreche com aspecto de farinha bastante uniforme;

- Da cervejeira artesanal: obtida a partir de água, malte, trigo e lúpulo. É uma dreche bastante granulada, com vestígios de cascas e sementes;

- Da cervejeira artesanal: obtida a partir de água, malte e lúpulo. É uma dreche bastante granulada, com vestígios de cascas e sementes;

A dreche a ensilar foi colocada em frascos plásticos de 1 litro, compactou-se bem até ficarem completamente cheios e selou-se com sal de cozinha grosso. Taparam-se os frascos e viraram-se as tampas para baixo. Foi-se acompanhando a libertação de sucos pela tampa, analisando o cheiro para verificar se a ensilagem estava numa boa direcção. Passadas 6 semanas, a dreche estava ensilada.

Ensilaram-se as amostras de dreche da Sagres e a da cervejeira artesanal de malte e trigo.

Outra maneira de ensilar a dreche é usando o silo especialmente concebido para o efeito, mas envolve quantidades maiores e as técnicas de preparação e limpeza são mais demoradas, pelo que se optou pelos frascos, pois as quantidades a ser analisadas são reduzidas e o risco da ensilagem se estragar é menor, bem como o tempo de preparação e limpeza dos materiais.



Figura 12: Fotografia das 3 dreches usadas. (Da esquerda para a direita) a) dreche proveniente da Sagres; b) dreche artesanal à base de malte; c) dreche artesanal à base de malte e trigo.

2.3. Monitorização do pH e cálculo da perda de massa durante a ensilagem

Encheram-se 45 frascos de 250 mL para ensilar, conforme descrito no método 2.2, e pesaram-se. A partir do primeiro dia após ensilagem, foram-se abrindo frascos para pesar a massa e medir o pH. Deste modo é possível avaliar a curva decrescente do pH assim como a perda de massa ao longo do tempo.

2.4. Determinação da proteína

A proteína total da matéria-prima foi determinada através do método de Kjeldahl (1975) utilizando um analisador de proteína semi-automático Kjeltex, Tecator (Suécia).

O factor de conversão utilizado foi $N \times 6,25$. O procedimento experimental e os cálculos efectuados encontram-se descritos no Anexo I.

2.5. Determinação dos polissacáridos e grupos acetilo

As amostras das matérias primas dos resíduos sólidos ensiladas foram sujeitas a uma hidrólise ácida quantitativa, de acordo com uma adaptação do protocolo do NREL (Sluiter et al., 2008a). A 0,5 g de amostra foram adicionados 5 mL de H_2SO_4 a 72% (m/m) e a mistura incubada a $30 \pm 1^\circ C$ num banho termostaticado (Mettler, Alemanha) durante 1 h com agitação ocasional com uma vareta de vidro. Em seguida, todo o conteúdo do tubo foi transferido para frascos Schott de 250 mL por arrastamento com água desmineralizada, numa quantidade suficiente para se obter uma concentração de H_2SO_4 de 4% (m/m). Esta mistura foi autoclavada a $121^\circ C$ durante 1 h e após o término da reacção procedeu-se a um arrefecimento rápido com a abertura do esgoto da autoclave. Após os frascos estarem devidamente arrefecidos, fez-se a pesagem do conjunto de modo a verificar a ocorrência de possíveis perdas durante o tratamento. Por último a mistura foi filtrada com filtros de placa porosa (Schott) de porosidade 3, previamente tarados a $550 \pm 5^\circ C$ numa mufla (Heraeus D-6450, Alemanha) durante 5 h.

Os componentes da fracção líquida, o hidrolisado, após filtração por filtros $0,45 \mu m$, foram previamente analisados por HPLC. O cálculo das percentagens dos polímeros e grupos acetilo é feito com base nas concentrações de glucose, xilose, arabinose e ácido acético presente nos hidrolisados e encontra-se descrito no Anexo II.

2.6. Determinação da lenhina Klason

O resíduo insolúvel obtido após as duas fases da hidrólise ácida quantitativa e após correção do valor da cinza, constitui a lenhina Klason. Este resíduo contido nos cadinhos de placa porosa foi lavado com água destilada (100 mL), filtrado e seco numa estufa, durante 16 h a $105 \pm 5^\circ\text{C}$. Decorrido esse tempo, os cadinhos foram arrefecidos num exsiccador, à temperatura ambiente e pesados posteriormente. De seguida, os cadinhos que continham o resíduo insolúvel foram colocados na mufla a $550 \pm 5^\circ\text{C}$ durante 5 h e pesados após arrefecimento em exsiccador. O valor da cinza no resíduo insolúvel em ácido permite fazer a correção para o cálculo da lenhina Klason.

Tabela 11 - Equipamento e condições de operação para as análises de açúcares e ácido acético por HPLC.

Coluna	HPX-87H
Fase Móvel	H ₂ SO ₄ 0,5 mM
Caudal	0,4 mL/min (caracterização matéria-prima e resíduos sólidos)
Volume de amostra	20 µL (0,4 mL/min) ou 5 µL (0,5 mL/min)
Temperatura da coluna	50 °C
Temperatura do detector IR	45 °C
Comprimento de onda UV	280 nm

2.7. Extracção aquosa dos compostos solúveis produzidos durante a ensilagem

Por forma a extrair os compostos, efectuou-se primeiro a determinação da humidade por balança de infravermelhos, com cerca de 2 g de amostra. Adicionou-se água numa razão de 3/1 (m/m), ou seja 3g de água para 1g de dreche ensilada seca. Agitou-se durante cerca de 5 minutos com uma vareta. De seguida procedeu-se à filtração usando-se filtros Whatman nº1 seguida por filtração por filtros de membrana de 0.45µm. Procedeu-se à injeção do filtrado no aparelho de HPLC, com as condições definidas na tabela 9. Os padrões usados foram ácido láctico, ácido acético e ácido propiónico.

Tabela 12: Equipamento e condições de operação para as análises de ácidos orgânicos por HPLC.

Coluna	HPX-87H
Fase Móvel	H ₂ SO ₄ 0,5 mM
Caudal	0,5 mL/min
Volume de amostra	20 µL (0,4 mL/min) ou 5 µL (0,5 mL/min)
Temperatura da coluna	50 °C
Temperatura do detector IR	45 °C

2.8. Preparação das bolachas

Para preparação das bolachas, utilizaram-se os seguintes ingredientes:

- 150 g de farinha de trigo sem fermento
- 30 g de açúcar
- 50 g de margarina
- 1 ovo
- 1 iogurte de sabor
- 1 colher de chá de canela
- 50 g de dreche normal ou ensilada

Juntou-se o ovo com o açúcar e a margarina derretida e bateu-se bem. De seguida juntou-se a farinha lentamente, de modo a ficar sem grumos. Adicionou-se a dreche, previamente triturada na picadora (caso seja utilizada a dreche da Sagres não é necessário) e a canela e misturou-se tudo muito bem. No fim, acrescentou-se o iogurte de banana. Com uma colher de sopa distribuiu-se pequenas rodela da massa num tabuleiro forrado com papel vegetal. Levou-se ao forno, pré-aquecido a 180°C durante cerca de 25 minutos, até as bolachas estarem douradas e crocantes. Após arrefecidas, estavam prontas a servir.

3. Resultados e Discussão

3.1. Ensilagem

Na primeira fase, procedeu-se ao processo de ensilagem, directamente no silo construído com e sem ácido sulfúrico e depois em latas. As primeiras tentativas ficaram contaminadas conforme se pode observar nas figuras no capítulo das contaminações (3.8).

Para obter dreche ensilada dum modo mais rápido e eficaz, procedeu-se ao processo de ensilagem usando os frascos plásticos de 1000ml e 250ml, com o procedimento descrito no capítulo materiais e métodos.

3.2. Determinação de proteína

Tabela 13 – Valor médio de proteína, expresso em %, em cada tipo de dreche.

Tipo de Dreche	Valor Médio de Proteína (%)
Malte + Trigo	18,6
Malte	23,1
Sagres	17,4
Malte + Trigo ensilada	-
Sagres ensilada	28,2

Verificou-se que a dreche ensilada tem um valor de proteína superior à dreche fresca em termos percentuais, a rondar os 50%, o que se pode justificar pela perda de massa durante o processo de ensilagem, uma vez que este processo conserva a proteína, reduzindo as perdas, mas não induzindo ganhos.

3.3. Determinação da composição química das amostras

Tabela 14 – Dados das amostras, expresso em %, em cada tipo de dreche.

Dreches	Glucano (%)	Xilano (%)	Arabinano (%)	Grupos Acetilo (%)	Lenhina Klason (%)
Malte + Trigo	35,96 ± 0,13	10,40 ± 0,15	3,5 ± 0,16	0,64 ± 0,01	8,03 ± 0,06
Malte	37,11 ± 0,64	13,13 ± 0,15	0,26 ± 0,02	3,58 ± 0,004	11,03 ± 0,29
Sagres	13,66 ± 0,03	17,51 ± 0,08	9,86 ± 0,08	1,32 ± 0,14	18,42 ± 0,85
Malte + Trigo	24,43 ± 0,79	14,82 ± 0,53	8,53 ± 0,81	4,09 ± 1,46	19,21 ± 6,37
Ensilada					
Sagres Ensilada	18,49 ± 0,51	13,46 ± 0,11	6,08 ± 0,20	1,25 ± 0,07	13,55 ± 0,05

No caso da dreche da Sagres ensilada comparativamente à dreche de Sagres normal, verificou-se uma degradação das hemiceluloses de aproximadamente 30% de xilano, 40% de arabinano e 14% de grupos acetilo. Relativamente ao glucano, como seria de esperar, não se verifica grande degradação. Quanto à lenhina verificou-se uma degradação de 33% contrariamente ao previsível, uma vez que as LAB não degradam este tipo de compostos. Tal acontecimento poderá ter sido causado devido à presença de outros microrganismos no início da ensilagem ou entre a fase de saída do processo de produção de cerveja e o início do processo de ensilagem.

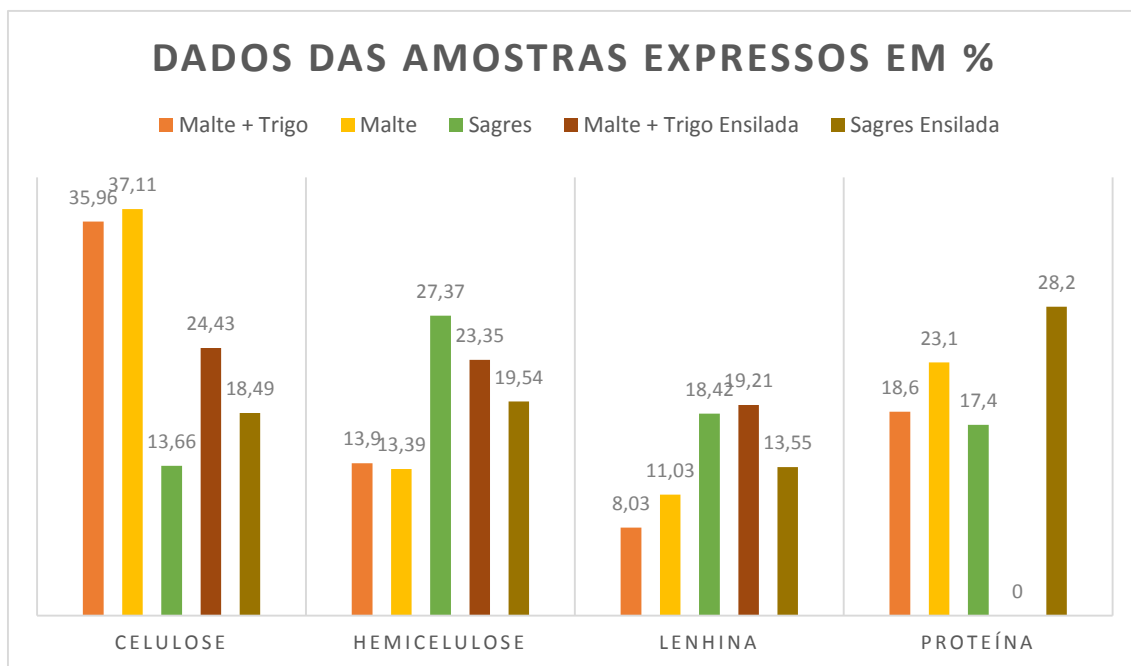


Figura 13: Valores de celulose, hemicelulose e lenhina dos diferentes tipos de dreche, expressos em percentagem.

É normal existir degradação da hemicelulose uma vez que as bactérias têm enzimas que degradam estes polissacáridos para usá-los como fontes de energia na sua forma mais simples.

3.4. Monitorização do pH e do peso ao longo do tempo

A dreche foi colocada a ensilar em frascos idênticos de 250 mL, conforme se pode observar na imagem em baixo:

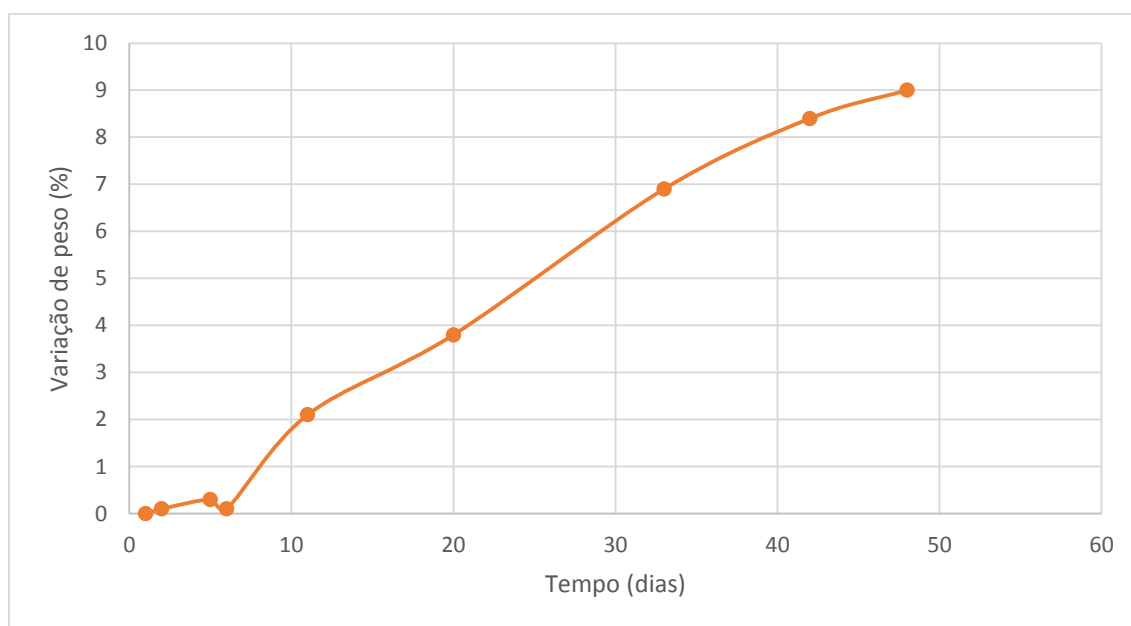


Figura 14 - Frascos com dreche ensilada.

Tabela 15 - Monitorização do pH e do peso ao longo do tempo.

Tempo de ensilagem da amostra (dias)	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Δ Peso (g)	Δ Peso (%)	pH
1	241,4	241,4	0	0	5,85
2	216,8	216,5	0,3	0,1	5,57
5	216,5	215,8	0,7	0,3	5,52
6	205,9	205,6	0,3	0,1	5,45
11	252,3	246,9	5,4	2,1	4,67
20	278,7	268,1	10,6	3,8	4,55
33	275	256,1	18,9	6,9	4,29
42	276,4	253,2	23,2	8,4	4,27
48	261,2	237,8	23,4	9,0	4,26

O processo de ensilagem demora cerca de seis semanas, pelo que a partir do 42º dia espera-se uma estabilização dos parâmetros do processo.

**Figura 15:** Gráfico com a variação do peso ao longo do tempo.

Verificou-se, como seria de esperar, um aumento da perda de massa ao longo do processo de ensilagem, verificando-se uma tendência para desacelerar a partir do 33º dia pelo que se pode verificar.

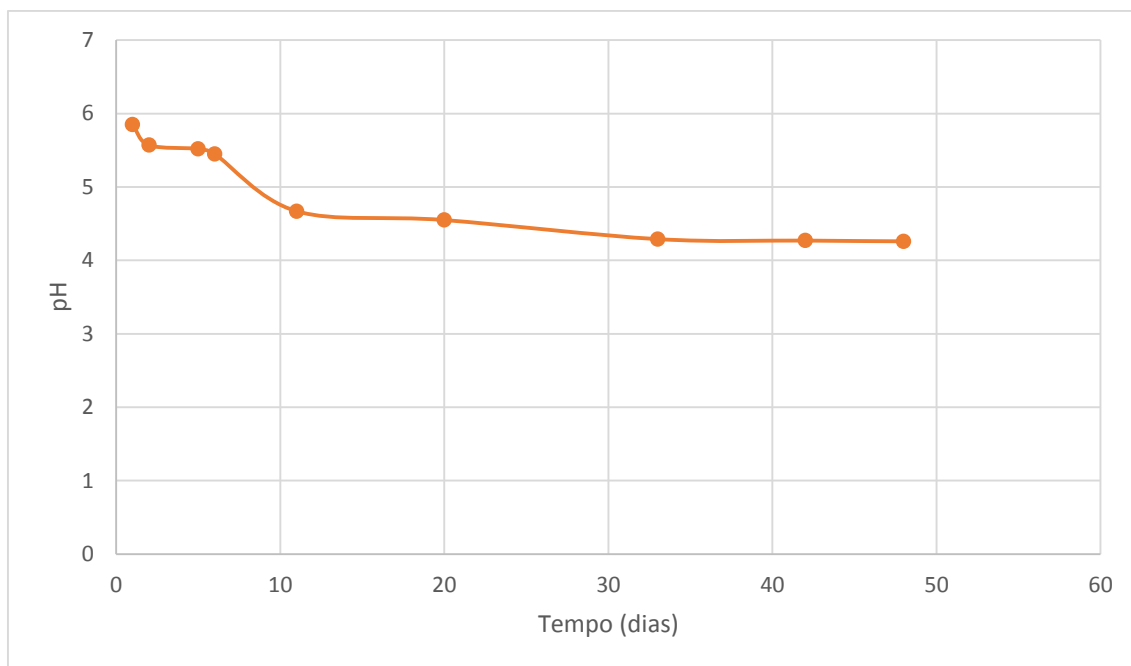


Figura 16: Gráfico com a variação do pH ao longo do tempo.

Quando o pH baixa até aos 3.5-4.5, há um impedimento do crescimento de bactérias capazes de degradar a ensilagem. Os valores obtidos neste processo de ensilagem, mostram que a mesma ocorreu da melhor forma e que os valores esperados surgem a partir da 3ª semana.

3.5. Quantificação dos ácidos presentes nas drenches ensiladas

Tabela 16: Dados obtidos pelos cromatogramas de quantificação de ácidos orgânicos.

Amostra		Conc. Ácidos (g/L)	Ácido (g/100 g m.s.)	Tempo de retenção (min)
Sagres ensiladas	Ac. Láctico	0,693	5,84	15,7
	Ac. Acético	0,859	7,25	18,8
	Ác. Propiónico	0,043	0,36	22,0
Malte + Trigo ensiladas	Ac. Láctico	2,32	23,59	15,6
	Ac. Acético	0,285	2,89	18,7
	Ác. Propiónico	0,089	0,90	21,8

Um dos factores indicadores de um bom processo de ensilagem, para além da descida do pH, é a presença do ácido láctico como ácido maioritário. Analisando a tabela em cima,

verificamos que no caso da dreche de malte e trigo a ensilagem indica valores conformes de acordo com o esperado.

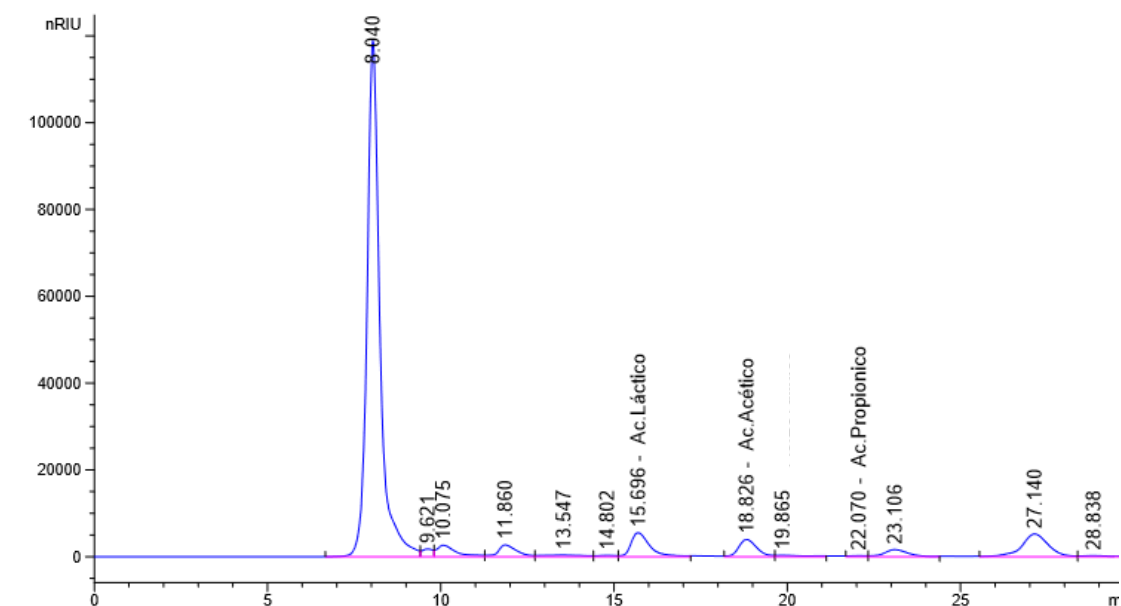


Figura 17 - Cromatograma de quantificação dos ácidos presentes na dreche da Sagres ensilada (primeira análise).

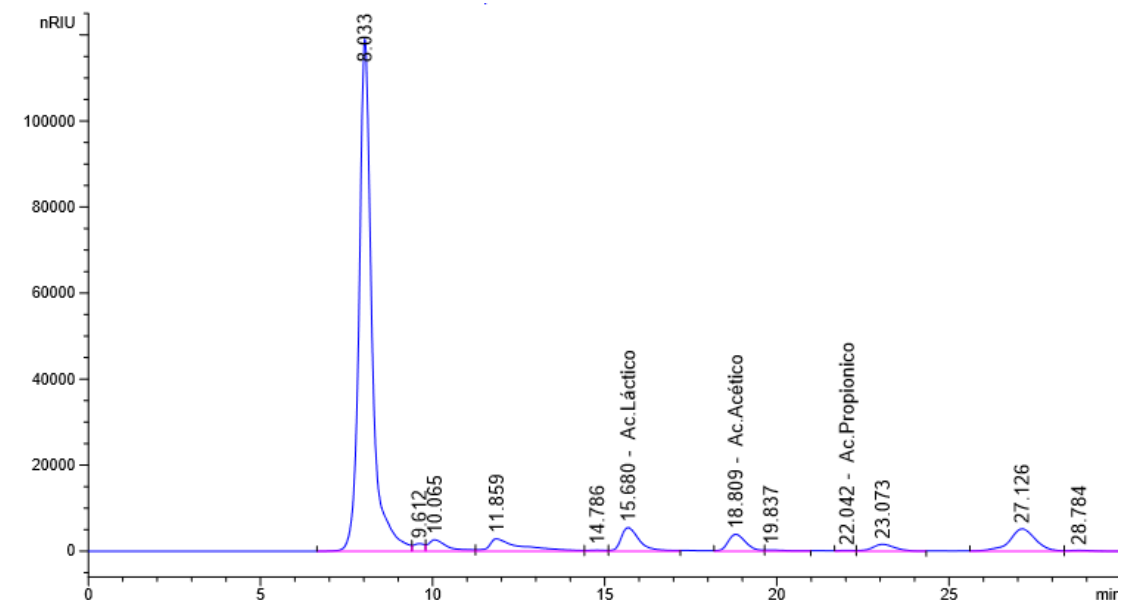


Figura 18 – Cromatograma de quantificação dos ácidos presentes na dreche da Sagres ensilada (segunda análise).

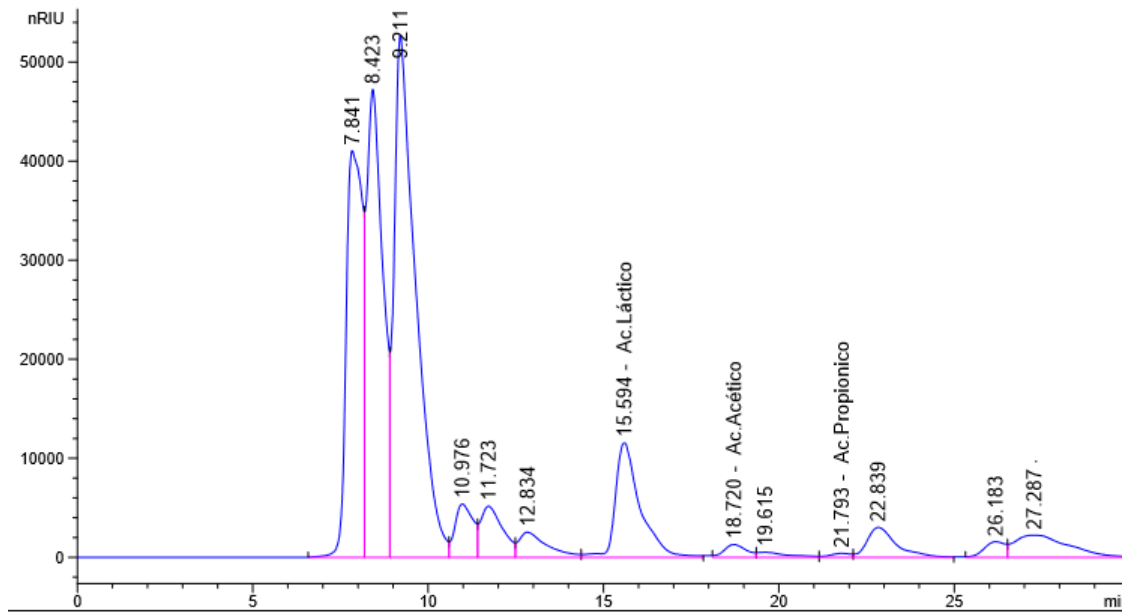


Figura 19 – Cromatograma de quantificação dos ácidos presentes na dreche de malte e trigo ensilada (primeira análise).

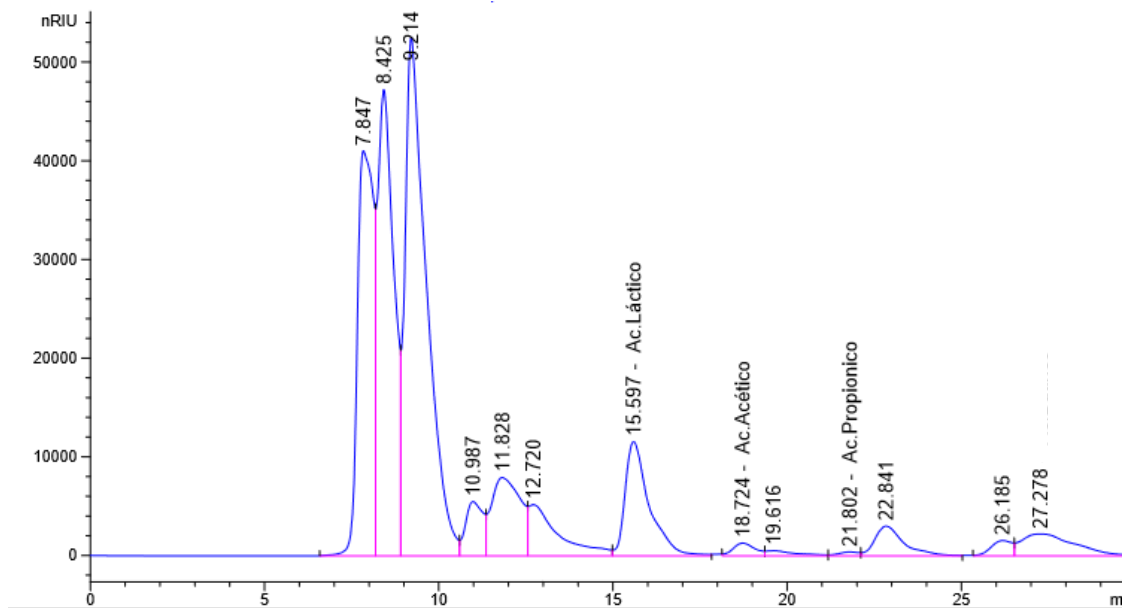


Figura 20 – Cromatograma de quantificação dos ácidos presentes na dreche de malte e trigo ensilada (segunda análise).

3.6. Produção de bolachas

As bolachas foram cozinhadas no forno, a 150°C, durante 20 a 25 minutos, o resultado obtido pode verificar-se nas imagens que se seguem:



Figura 21 - Bolachas de dreche no forno



Figura 22 - Bolachas de dreche cozinhadas.



Figura 23 - Bolachas de dreche cozinhadas.

Obtiveram-se bolachas com um sabor e textura bastante agradáveis.

3.7. Avaliação Nutricional e Química das Bolachas

Os resultados da avaliação nutricional e química na tabela 16, demonstram que os parâmetros estudados, mantêm-se semelhantes entre a receita de bolachas à base de dreche normal comparando com as bolachas à base de dreche ensilada. Porém, os valores da dreche ensilada, à excepção da proteína e dos hidratos de carbono, são ligeiramente superiores. A proteína tem uma ligeira redução devido às perdas inevitáveis durante o processo de ensilagem, e os hidratos de carbono foram em parte consumidos pelas bactérias que cresceram durante o processo de ensilagem.

Tabela 17: Resultados da análise química e nutricional às bolachas de dreche normal e ensilada (obtido por entidade externa).

Parâmetro	Dreche Normal	Dreche Ensilada
	Resultado (n=2)	
Humidade	9,5 ± 0,07 %	9,6 ± 0,07 %
Matéria Gorda	13,6 ± 0,07 %	16,1 ± 0,09 %
Proteína	9,66 ± 0,13 %	9,30 ± 0,11 %
Cinza Total	1,34 ± 0,00 %	1,46 ± 0,01 %
Hidratos de Carbono	66,0 ± 0,01 %	63,6 ± 0,06 %
Fibra	1,05 ± 0,01 %	1,02 ± 0,01 %
Valor Calórico	425 ± 0,07 Kcal/100g	436 ± 0,12 Kcal/100g
	1774 ± 0,29 KJ/100g	1824 ± 0,50 KJ/100g

3.8. Contaminações

Primeira fase com a tentativa de ensilagens directamente no silo:



Figura 24: Observação de contaminação da dreche, 2ª tentativa no silo.



Figura 25: Observação de contaminação da dreche, 2ª tentativa no silo.



Figura 26: Observação de contaminação da dreche 2ª tentativa no silo.

Numa segunda fase, procedeu-se à tentativa de ensilagem em latas, devidamente seladas com parafilme, e com pedras por cima para fazer peso de compressão.



Figura 27: Observação de contaminação da dreche, 1ª tentativa em latas.



Figura 28: Observação de contaminação da dreche, 1ª tentativa em latas.



Figura 29: Observação de contaminação da dreche, 2ª tentativa em latas.



Figura 30: Observação de contaminação da dreche, 3ª tentativa em latas.



Figura 31: Observação de contaminação da dreche, 3ª tentativa no silo.



Figura 32: Observação de contaminação da dreche, 3ª tentativa no silo.



Figura 33: Observação da libertação de líquidos da dreche contida no silo, 3ª tentativa no silo.



Figura 34: Observação de contaminação da dreche após abertura do silo, 3ª tentativa no silo.

As possíveis causas para que ocorra contaminação são uma razão carbono/azoto inadequada, a entrada de ar, o excesso de humidade, a ausência de drenagem, a exposição a temperaturas altas (acima de 37°C), o tempo de espera em que a dreche sai do processo de fabrico e está exposta a contaminações antes de ser ensilada, entre outros.

4. Considerações finais e perspectivas futuras

4.1. Considerações finais

Esforços crescentes têm sido tomados no sentido de reutilizar os subprodutos agroindustriais, tanto do ponto de vista económico como do ambiental. A dreche é um importante subproduto que pode ser obtido a partir das indústrias de produção de cerveja de todo o mundo. Apesar de todas as aplicações descritas, o seu uso continua limitado, sendo praticamente apenas usado como ração animal, ou simplesmente como cobertura de solos. É por este motivo, muito importante o contínuo estudo e desenvolvimento de técnicas para o seu aproveitamento e conservação, uma vez que todos os anos são produzidas enormes quantidades de dreche.

Devido à disponibilidade contínua da dreche, devido à contínua produção, ao seu baixo custo e ao seu elevado valor nutritivo, a dreche é considerada como um potencial e importante adjunto na alimentação humana. Se a dreche for usada para produzir, pães, bolachas, massas, etc, a riqueza proteica e fibrosa destes produtos, fariam com que fossem de grande importância principalmente em regiões mais pobres do planeta, onde os alimentos escasseiam e a má nutrição subsiste. A dreche e os seus derivados, providenciam elevados benefícios para a saúde humana.

Uma das maiores limitações no uso da dreche é a sua rápida deterioração e elevados custos quando se pretende conservar. Ao usar dreche ensilada, consegue-se uma conservação a baixo custo, evita-se a deterioração, mas tem de se ter em conta a alteração de sabor, cheiro, textura, e conseqüentemente o uso de menor quantidade para evitar a formação de cheiro e sabor desagradável no produto final.

Algumas propriedades na cozedura são significativamente afectadas. Os produtos, como pão e bolachas, contendo dreche, ficam mais escuros, menos crocantes e menos volumosos. Todas estas características atribuem-se directamente ao alto teor de fibra da dreche. A validade dos produtos foi monitorizada em estudos recentes e verificou-se que a qualidade dos mesmos manteve-se inalterada até aproximadamente 50 dias de armazenamento. A dreche tem o potencial de vir a ser usada como ingrediente funcional em produtos de confeitaria, mas serão necessários mais estudos para melhorar a qualidade e avaliar a aceitação do consumidor relativamente a estes produtos.

A investigação sobre técnicas de bioprocessamento e enzimas que melhorem a qualidade de produtos com dreche estão em evolução, e os efeitos da dreche além da

microestrutura de massa e reologia, que é o estudo de materiais com características de sólido e fluido. estão a ser exploradas (Ktenioudaki, A., et al, 2012).

Vimos que é possível ensilar a dreche sem recorrer a inóculos ou aditivos à escala laboratorial, no entanto, tendo em conta a sua aplicação e produção industrial, pode justificar o aumento dos custos do processo usando esses suplementos no sentido de melhorar o processo de ensilagem, aumentando a qualidade e até diminuindo o tempo do processo.

Outros benefícios do uso da dreche seriam a criação de novos postos de emprego, uma vez que iria haver uma nova matéria prima para trabalhar e em termos ambientais, a dreche deixaria de ser um resíduo para eliminar.

4.2. Perspectivas futuras

A variável mais importante deste processo é o modo como corre o processo de ensilagem. O sucesso ou não da ensilagem determina o sucesso de tudo o resto. Apenas garantido a boa conservação da dreche, podemos pensar em dar seguimento à sua utilização em produtos de confeitaria, como pão, massa, bolos, bolachas, cereais, etc., em suplementos alimentares, na indústria alimentar, na construção, na saúde, entre outros.

Futuramente, dando seguimento a este trabalho, para garantir a boa ensilagem e redução de custos devido a ensilagens mal concebidas, uma boa estratégia passaria por proceder à inoculação de bactérias lácticas apropriadas para o efeito para exponenciar o sucesso das ensilagens.

A uma escala laboratorial, é possível a ensilagem sem recurso a aditivos, o que possivelmente não se verificará numa escala industrial. Pelo que o uso de inóculos ou ácidos adequados à indústria alimentar poderão ser uma solução.

Ao introduzir este processo numa escala industrial, há que considerar a optimização e monitorização dos parâmetros relevantes para o processo, como o pH, o nível de oxigénio, a humidade, o desenvolvimento bacteriano e a qualidade da dreche a ensilar.

A introdução de diferentes quantidades de dreche ensilada nos produtos de confeitaria e conseqüente avaliação por parte dos consumidores também será um passo importante, pois estes produtos apenas terão sucesso se puderem conter dreche ensilada em quantidade suficiente para produzir elevados benefícios para a saúde e ao mesmo tempo terem um gosto agradável para serem consideradas como opção ao consumidor em detrimento dos outros produtos ricos

em fibra e outros componentes nutracêuticos cada vez mais valorizados pela sociedade em geral.

O uso de dreche ensilada como combate à fome nas zonas mais empobrecidas do globo é uma excelente alternativa e uma opção bastante viável. Se por um lado a dreche, que é uma fonte bastante económica, rica em fibra e outros componentes essenciais à boa manutenção do corpo humano, deteriora-se com muita facilidade, não sendo possível a sua exportação para as zonas mais carenciadas e onde a subnutrição é um problema enraizado e um dos responsáveis pela elevada taxa de mortalidade e mau desenvolvimento do corpo humano, a dreche ensilada é uma excelente opção para exportar e ser usada como base da alimentação destas populações combatendo assim os seus défices alimentares e contribuindo para o seu bom desenvolvimento.

Uma estratégia futura, na área da medicina, passa por usar a dreche como agente nutracêutico no tratamento da úlcera colética. Considerando os carboidratos o componente principal, deverão receber mais atenção no sentido de convertê-los em açúcares solúveis e fermentescíveis. Correntemente, existe uma quantidade considerável de produtos de valor acrescentado, como ácidos orgânicos, aminoácidos, vitaminas, etanol, butadienol, e muitos outros, produzidos por fermentações usando como substratos a glucose e a xilose. As fracções celulósicas e não celulósicas dos materiais lenhocelulósicos da dreche são uma fonte rica destes monossacáridos.

Outro aspecto a considerar é a possível produção de polímeros e resinas a partir da dreche. Grande parte destes produtos são produzidos a partir de químicos como etileno, propileno, benzeno, tolueno ou xileno. Os compostos aromáticos (benzeno, tolueno e xileno) podem ser produzidos a partir da lenhina da dreche, considerando que compostos alifáticos de baixo peso molecular (etileno e propileno) podem ser derivados do etanol produzido a partir da fermentação de açúcares gerados a partir da celulose e arabinóxilose da dreche.

O potencial também já comprovado das glucanas na área da saúde contribuem para que mais projectos venham a ser aprovados a fim de beneficiar o uso da dreche para obtenção destas fibras (Mussato et al., 2006).

5. Referências bibliográficas

- Adams, M. R.; Moss, M. O., 2002. Food Microbiology. Second Edition. University of Surrey, Guildford, UK. ISBN 0-85404-611-9
- Anderson, R.G., (2006). History of Industrial Brewing, in Handbook of Brewing, 2nd ed. (Priest F. G., Stewart G. G., eds.) Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida, USA pp. 1-37.
- Behmel, U., Leupold, G., Vieweger, S., 1993. Production of biogas from plant waste. Part 1. Optimized hydrolysis of the lignocellulosic components in spent grain. *Chemie, Microbiology, Technology der Lebensmittel* 15, 55-61.
- Belibasakis, N.G., Tsirgogianni, D., 1996. Effects of wet brewers grains on milk yield, milk composition and blood components of dairy cows in hot weather. *Animal Feed Science and Technology* 57, 175-181.
- Bento, A., 2011. Alimentação Adequada: Faça mais pela sua Saúde! Associação Portuguesa dos Nutricionistas. ISBN: 978-989-96506-6-4
- Berto, D., 2003. Panorama do mercado de bebidas. Cerveja, a bebida alcoólica mais consumida no país. *Food ingredients* 23, 36-39.
- Brennan, 2005. C.S. Dietary fiber, glycemic response, and diabetes. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49, 560-570.
- Carvalho, F, Esteves, M.P., Parajó, J.C., Pereira, H., Gírio, F.M., 2004a. Production of oligosaccharides by autohydrolysis of brewery's spent grain. *Bioresource Technology* 91, 93-100.
- Carvalho, F., Duarte, L.C., Medeiros, R., Gírio, F.M., 2004b. Optimization of brewery's spent grain dilute-acid hydrolysis for the production of pentose-rich culture media. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 113/116, 1059-1072.

- Carvalho, F., Duarte, L.C., Lopes, S., Parajó, J.C., Pereira, H., Gírio, F.M., 2005. Evaluation of the detoxification of brewery's spent grain hydrolysate for xylitol production by *Debaryomyces hansenii* CCM1 941. *Process Biochemistry* 40, 1215-1223.
- Catalani, A.L., Kang, E.M.S., Dias, M.C.G., Maculevicius, J., 2003. Fibras alimentares. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, 18, 178-182.
- Chiang, P.C., Chang, P., You, J.H., 1992. Innovative technology for controlling VOC emissions. *Journal of Hazardous Materials* 31, 19-28.
- Doe, J. (2007). Produção de cerveja, in: *Reactores Biológicos, -Fundamentos e Aplicações;* da Fonseca MMR e Teixeira J (ed.), Lidel; Lisboa, p. 277-305.
- Dragone, G., Almeida e Silva, J.B., Silva, D.P., Santos, L., 2002. Elaboración de cervezas en Brazil; processo de altas densidades, *Indústria de Alimentos* 5, 44-46
- Duarte, L.C., Carvalho, F., Lopes, S., Marques, S., Parajó, J.C., Gírio, F.M., 2004. Comparison of two posthydrolysis processes of brewery's spent grain autohydrolysis liquor to produce a pentose-containing culture medium. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 113/116, 1041-1058.
- Ezeonu, F.C., Okaka, A.N.C., 1996. Process kinetics and digestion efficiency of anaerobic batch fermentation of brewers' spent grains (BSG). *Process Biochemistry* 31, 7- 12.
- Farcas, A., Tofană, M., Socaci, S., Mudura, E., Scrob, S., Salanță, L., Mureșan, V., 2014. Brewers' spent grain – A new potential ingredient for functional foods. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 20(2), 137-141
- Fastnought C.E., 2001. *Handbook of Dietary Fiber: Barley Fiber*, Marcel Dekker, New York. 519–542.
- Harber, G.B., 1997. Depletion and disruption of dietary fiber. Effects on satiety, plasma glucose and serum insulin. *Lancet*, 12, 682-697.
- Hassona, H.Z., 1993. High fibre bread containing brewer's spent grains and its effect on lipid metabolism in rats. *Die Nahrung* 37, 576-582.

- Hertwich, E., van der Voet, E., Suh, S., Tukker, A., Huijbregts M., Kazmierczyk, P., Lenzen, M., McNeely, J., Moriguchi, Y., 2010. Assessing the Environmental Impacts of Consumption and Production: Priority Products and Materials. United Nations Environment Programme
- Huige, N.J., 1994. Brewery by-products and effluents, in: Hardwick, W.A. (Ed.), Handbook of Brewing. Marcel Dekker, New York, pp. 501-550.
- Ishiwaki, N., Murayama, H., Awayama, H., Kanauchi, O., Sato, T., 2000. Development of high value uses of spent grain by fractionation technology, Master Brewers Association of America Technical Quarterly 37, 261–265.
- Kabel, M.A., Carvalheiro, F., Garrote, G., Avgerinuous, E., Koukios, E., Parajó, J.C., Gírio, F.M., Schols, H.A., Voragen, A.G.J., 2002. Hydrothermally treated xylan rich by-products yield different classes of xylo-oligosaccharides. Carbohydrate Polymers 50, 47-56.
- Kaur, V.I., Saxena, P.K., 2004. Incorporation of brewery waste in supplementary feed and its impact on growth in some carps. Bioresource Technology 91, 101-104.
- Kendal, N.T., 1994. Barley and malt. In: Hardwick, W.A. (Ed.), Handbook of Brewing, Marcel Dekker, New York, pp. 109-120.
- Khan, A.W., Lamb, K.A., Schneider, H., 1988. Recovery of fermentable sugars from the brewers' spent grains by the use of fungal enzymes. Process Biochemistry 23, 172-175.
- Kissel, L.T., Prentice, N., 1979. Protein and fiber environment of cookie flour with brewers' spent grain. Cereal chemistry 56, 261-266.
- Kunze, W., 1996. In: Mieth, H.O. (Ed), Technology Brewing and Malting – International Edition, VLB, Berlin. 726p.
- Ktenioudaki, A., Chaurin, V., Reis, S., Gallagher, E., 2012. Brewer's Spent Grain as a Functional Ingredient for Breadsticks. International Journal of Food Science and Technology, 47, 1765-1771.

- Linko, M., Haikara, A., Ritala, A., Penttilä, M., 1998. Recent advances in the malting and brewing industry. *Journal of Biotechnology* 65, 85-98.
- Lewis, M.J., Young, T.W., 1995. *Barley. Brewing.* Chapman & Hall, London, pp. 36-47.
- Low, K.S., Lee, C.K., Liew, S.C., 2000. Sorption of cadmium and lead from aqueous solutions by spent grain. *Process Biochemistry* 36, 59-64.
- Macleod, A.M., 1979. The physiology of malting, in: Pollock, J.R.A. (Ed.), *Brewing Science*, vol. 1. Academic Press, New York, pp. 145-232.
- Mega, J.F., Neves, E. & de Andrade, C.J., 2011. A produção de cerveja no Brasil (revisão), revista CITINO, Vol.1, nº1, 21-29.
- Meussdoerffer, F.G., (2009). A Comprehensive History of Beer Brewing, in: *Handbook of Brewing* (Eßlinger H M ed) Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, pp 1-42.
- Mira, G.S., Graf, H., Cândido, L.M.B., 2009. Visão retrospectiva em fibras alimentares com ênfase em β -glucanas no tratamento do diabetes. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 45 nº 1.
- Miranda, M.Z. Grossmann, M.V.E., Naseshima, E.H., 1994a. Utilization of brewers' spent grain for the production of snacks with fiber. 1. Physicochemical characteristics. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 37, 483-493.
- Miranda, M.Z. Grossmann, M.V.E., Prudencioferreira, S.H., Nabeshima, E.H., 1994b. Utilization of brewer spent grain (BSG) for production of snacks with fiber. 2. Sensory analysis of snacks. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 37, 9-21.
- Mussatto, S. I.; Dragone, G.; Roberto, I. C., 2006. Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications. *Journal of Cereal Science*, 43 (1): 1-14
- Okamoto, H., Kitagawa, Y., Minowa, T., Ogi, T., 1999. Thermal-catalytic conversion of high moisture spent grains to a gaseous fuel. *Master Brewers Association of America Technical Quarterly* 36, 239-241.

- Okamoto, H., Sato, K., Yagi, N., Inove, M., Yamasaki, S., Ishida, S., Shibata, J., 2002. Development of production process of charcoal bricks from spent grain. *Kagavk Kogavk Ronbunshu* 28, 137-142.
- Öztürk, S., Özboy, Ö., Cavidoglu, I., Köksel, H., 2002. Effects of brewers' spent grain on the quality and dietary fibre content of cookies. *Journal of the institute of Brewing* 108, 23-27.
- Park, A., Sifferlin, A., 2014. Dieters, Beware Supplements for weight loss are heavy on claims and light on scientific proof. *TIME*. 7-14, 12.
- Petricek, L., Fort, V., 1998. Process for manufacture of biogas by anaerobic digestion of raw material of organic origin, Patent Number 96-3441 283228, Acession Number AN 1998: 635917, Czech Republic 1998. 5pp.
- Prentive, N., D'Appolonia, B.I., 1977. High-fiber bread containing brewers' spent grain. *Cereal chemistry* 54, 1084-1095.
- Reinold, M.R., 1997. Manual práctico de cervejaria, first ed. Aden Editora e Comunicações Ltda, São Paulo. 214p.
- Rieker, C., Moeller, M., Sommer, K., 1992. Anaerobic degradation of beer spent grain or biogas production. *Brauwelt* 132, 716-721.
- Russ, W., Mörtel, H., Meyer-Pittroff, R., 2005. Application of spent grains to increase porosity in bricks. *Constrution and Building Materials* 19, 117-126.
- Santos, M., Jiménez, J.J., Bartolomé, B., Gómez-Cordovés, C., del Nozal, M.J., 2003. Variability of brewers' spent grain within a brewery. *Food Chemistry* 80, 17-21.
- Sato, K., Yagi, N., Okamoto, H., Inove, M., Ajiri, T., Shibata, J., 2001. Physical and burning properties of spent grain charcoal. *Shigen to sozai* 117, 587-590.
- Sawadogo, L., Sepehri, H., Houdebine, L.M., 1989. Presence of a factor stimulating prolactin and growth hormone secretion in brewers' spent grains. *Reproduction, Nutrition, Development* 29, 139-146.

- Schwencke, K; Zanker, G., Bruijn, P., 2015. Treatment of brewers' spent grain: upgrading by-products, 118th anniversary of MBAA convention, Miami (Florida, EUA), Comunicação Oral (O-8), pp. 24.
- Tavares, A., 2012. Utilização da enzima alfa-acetolactato descarboxilase (ALDC) no processo e produção de cerveja. Tese de Mestrado. Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.
- Townsley, P.M., 1979. Preparation of commercial products from brewers' waste grain and trub. MBAA Technical Quarterly 16, 130-134.
- Tschope. E.C, 2001. Microcervejarias e cervejarias. A história, a arte e a tecnologia, first ed. Aden Editora e Comunicações Ltda, São Paulo.
- US Food and Drug Administration, 2001. Health Claims: Soluble fiber from certain foods and risk of heart diseases. Code of Federal Regulations, 21, 101-181.
- Vanbelle, M. and Bertin, G. 1985. L'ensilage, aspect biologiques nouveaux. Université de Louvain, Faculté des Sciences Agronomiques, Place croix du Sud, 3 Louvain La Neuve, 1348, Belgium.
- Venturini Filho, W.G., Cereda, M.P., 2001. Cerveja. In: Almeida Lima, U., Aquarone, E., Borzani, W., Schimidell, W. (Eds), Biotecnologia Industrial Biotecnologia na Produção de Alimentos Biotecnologia na Produção de Alimentos. Edgar Blücher, São Paulo, pp. 91-144.
- Wattiaux, M., sd. Introduction to Silage Making. The Babcock Institute University of Wisconsin. Dairy Updates. Feeding No. 502

Anexos

Anexo I - Determinação da proteína total

A proteína total foi determinada de acordo com o método de Kjeldahl (1975). As amostras a analisar foram pesadas directamente nos tubos de digestão. Foi tomada uma massa de 0,5 g de amostra à qual se adicionou 10 g de mistura catalisadora e 20 mL de H₂SO₄ concentrado (96% p.p⁻¹), e colocaram-se os tubos com as amostras preparadas na unidade de aquecimento do aparelho de digestão (Digestion System 6 Modelo 1007, Tecator, Suécia). Seguidamente colocaram-se as cápsulas do sistema de extração de fumos e abriu-se a fonte de vácuo. Nos primeiros 30 minutos do processo, a temperatura foi moderada e após este período foi elevada até 420°C, durante 1,5h. Uma vez terminada a digestão, e após arrefecimento do conteúdo dos tubos, adicionou-se 100 mL de água destilada e 50 mL de ácido bórico 4% (p/v). Em seguida colocaram-se os tubos na unidade de destilação (Kjeltec System modelo 1026, Tecator, Suécia). Durante esta operação de destilação foi libertado amoníaco, por adição da solução de NaOH, que é arrastado por uma corrente de vapor de água sendo depois recolhido na solução de ácido bórico. Em seguida, o amoníaco foi doseado por titulação com HCL 0,1 N, em presença da solução indicadora de pH (indicador de Tashiro) que se torna violeta a pH 4,8. Para o ensaio em branco procedeu-se da mesma forma, substituindo a massa da amostra por água destilada.

Tabela 1 – Reagentes utilizados na determinação da proteína total

Reagentes	
Mistura catalisadora	Sulfato de cobre 3 g Óxido de titânio 3 g Ácido esteárico 1 g Sulfato de potássio 93 g
Solução de ácido bórico	4% (p/v)
Solução de ácido clorídrico	0,1 N
Solução de hidróxido de sódio	50 % (p/v)
Indicador	Indicador de Tashiro ^a

^a Dissolveram-se 2 g de vermelho de metilo e 1 g de azul de metileno em 100 mL de álcool etílico 95% (v/v). A solução foi conservada em frasco escuro.

Anexo II - Formulário

Caracterização química da matéria-prima e resíduos sólidos

As concentrações de glucose, xilose, arabinose e ácido acético nos licores resultantes da hidrólise ácida quantitativa da matéria-prima e resíduo sólido foram utilizados para o cálculo das percentagens de glucano, xilano, arabinano e grupos acetilo, respectivamente (Eq. 1 – Eq. 4). O resíduo insolúvel em ácido, após correcção da cinza, permitiu o cálculo da lenhina Klason (eq. 5).

Na hidrólise ácida quantitativa uma pequena percentagem de açúcares é degradada, por isso são introduzidos factores de correcção para corrigir as perdas. De acordo com Browing essas perdas são de 2,6% para a glucose, 8,8% para xilose e 4,7% para a arabinose. Com base nestas percentagens é possível calcular os factores de correcção (F), que permitem corrigir as várias determinações. Neste trabalho o factor de correcção para cada açúcar foi de 1,04 para a glucose, 1,09 para a xilose e arabinose.

$$Gn = F \times \frac{100}{1005} \times \frac{162}{180} \times \frac{Glc \times Psol}{A} \quad \text{Equação 1}$$

$$Xn = F \times \frac{100}{1005} \times \frac{132}{150} \times \frac{Xyl \times Psol}{A} \quad \text{Equação 2}$$

$$Arn = F \times \frac{100}{1005} \times \frac{132}{150} \times \frac{Ara \times Psol}{A} \quad \text{Equação 3}$$

$$GAc = F \times \frac{100}{1005} \times \frac{60}{61} \times \frac{Ac \times Psol}{A} \quad \text{Equação 4}$$

$$LK = \frac{RIA - C}{A} \times 100 \quad \text{Equação 5}$$

- Gn, Xn, Arn, GAc, LK são as percentagens de glucano, xilano, arabinano, grupos acetilo e lenhina Klason, respectivamente (g por 100 g de sólido).

- F é o factor de correcção, por exemplo, para o glucano, $F=1/(1-0,026)=1,027$.

- Psol e A são os pesos da solução e da amostra seca utilizada no ensaio, respectivamente (g).
- RIA e C são os pesos do resíduo insolúvel em ácido e das cinzas da amostra, respectivamente (g).
- Glc, Xil, Ara e Ac são as concentrações de glucose, xilose, arabinose e ácido acético nos licores (g.l-1).

Anexo III – Resultados laboratoriais**Tabela 2** – Resultados obtidos para cálculo do teor de proteína de cada uma das amostras.

Proteína					
Amostra	g/amostra	Titulado(ml)	Factor	%	Media
Malte + trigo	0,5123	10,8	6,25	18,45	
Malte + trigo	0,502	10,8	6,25	18,82	18,6
Sagres	0,5057	13,2	6,25	22,84	
Sagres	0,5134	13,65	6,25	23,26	23,1
Malte	0,5059	10,6	6,25	18,33	
Malte	0,5274	9,9	6,25	16,42	17,4
Dreche Sagres Ensilada	0,5109	15,75	6,25	26,97	
Dreche Sagres Ensilada	0,5044	16,95	6,25	29,40	28,2

Amostra: Sagres**Tabela 3** – Resultados para determinação da humidade (%) na amostra de dreche da Sagres.

PCS	PAH	PCS+AS	H	H média (%)	P seco (%)
22,2919	1,0029	23,2494	0,0453		
36,9655	1,0111	37,9255	0,0505	4,79	95,21

PCS – Peso caixa seca

PAH – Peso amostra húmida

AS – Amostra seca

H – Humidade

P - Peso

Tabela 4 – Resultados para determinação da cinza (%) na amostra de dreche da Sagres.

PCS	PAH	PCS+AS	Cinza	Cinza média (%)	Pseco (%)
22,2919	1,0029	23,2494	0,0435		
36,9655	1,0111	37,9255	0,0431	4,33	95,67

PCS – Peso caixa seca

PAH – Peso amostra húmida

AS – Amostra seca

H – Humidade

P - Peso

Tabela 5 – Dados para o cálculo das % de polissacáridos (Gn, Xn, Ara, grupos acetilo e lenhina) no resíduo sólido da amostra de dreche da Sagres.

Hidrólise ácida quantitativa resíduo sólido		
PAH	0,5004	0,5009
Psolução	147,564	147,687
P total antes	390,141	389,869
P total depois	389,114	383,822
Psolução'	146,061	141,163
Pcadinho seco	29,1723	29,3000
PCLKseco	29,2541	29,4000
PCCseco	29,1753	29,3032
Humidade	0,0479	0,0479
Cinzas	0,5708	0,6082

PAH – Peso amostra húmida

H – Humidade

P – Peso

C – Caixa

LK – Lenhina Klason

Tabela 6 – Dados obtidos por HPLC para teores de Gn, Xn, Ara e Grupos acetilo na amostra de dreche da Sagres.

Área das amostras no HPLC	Concentração amostras (g/L)					
Glucose	0,4787	0,4799	0,4945	0,4944	0,479	0,494
Xilose	0,6020	0,6004	0,6171	0,6169	0,601	0,617
Arabinose	0,3401	0,3388	0,3414	0,3509	0,339	0,346
Acético	0,0565	0,0505	0,0417	0,0292	0,054	0,035

Tabela 7 – Resultados do teor de glucano, xilano, arabinano, grupos acetilo, lenhina Klason e humidade da dreche da Sagres (com base nos dados das tabelas 3, 4, 5 e 6).

Dados das amostras (expressos em %)				
	Valor médio			Erro relativo (%)
Glucano	13,6839	13,6320	13,66	0,19
Xilano	17,5916	17,4306	17,51	0,46
Arabinano	9,9321	9,7798	9,86	0,78
Grupos Acetilo	1,6037	1,0270	1,32	10,96
Lenhina Klason	16,5397	20,2975	18,42	4,63
Humidade	0,0479	0,0479	0,05	0,00

Amostra: Malte + Trigo**Tabela 8** – Resultados para determinação da humidade (%) na amostra de drecche de malte e trigo.

PCS	PAH	PCS+AS	H	H média (%)	P seco (%)
21,7836	1,0239	22,7572	0,0491		
24,958	1,0008	25,9089	0,0499	4,95	95,05

PCS – Peso caixa seca

PAH – Peso amostra húmida

AS – Amostra seca

H – Humidade

P – Peso

Tabela 9 – Resultados para determinação da cinza (%) na amostra de drecche de malte e trigo.

PCS	PAH	PCS+AS	Cinza	Cinza (%)	P seco (%)
21,7836	1,0239	21,82	0,0356	3,56	96,44

PCS – Peso caixa seca

PAH – Peso amostra húmida

AS – Amostra seca

H – Humidade

P – Peso

Tabela 10 – Dados para o cálculo das % de polissacáridos (Gn, Xn, Ara, grupos acetilo e lenhina) no resíduo sólido da amostra de drecche de malte e trigo.

Hidrólise ácida quantitativa resíduo sólido		
PAH	0,501	0,5
Psolução	147,626	147,575
P tot antes	390,675	381,204
P tot dep.	390,141	375,928
Psolução'	146,616	141,824
Pcadinho seco	29,3429	29,4745
PCLKseco	29,3831	29,5049
PCCseco	29,3443	29,4673
Humidade	0,0495	0,0495
Cinzas	0,2656	---

PAH – Peso amostra húmida

H – Humidade

P – Peso

C – Caixa

LK – Lenhina Klason

Tabela 11 – Dados obtidos por HPLC para teores de Gn, Xn, Ara e Grupos acetilo na amostra de dreche de malte e trigo.

Área das amostras no HPLC	Concentração amostras (g/L)					
Glucose	1,2015	1,2979	1,3281	1,2690	1,250	1,299
Xilose	0,4026	0,2949	0,3252	0,4152	0,349	0,370
Arabinose	0,0997	0,1268	0,1108	0,1469	0,113	0,129
Acético	0,0176	0,0234	0,0131	0,0326	0,020	0,023

Tabela 12 – Resultados do teor de glucano, xilano, arabinano, grupos acetilo, lenhina Klason e humidade da dreche de malte a trigo (com base nos dados das tabelas 8, 9, 10 e 11).

Dados das amostras (expressos em %)				
			Valor médio	erro rel. (%)
Glucano	35,8344	36,0907	35,96	0,36
Xilano	10,2477	10,5445	10,40	1,41
Arabinano	3,3280	3,6706	3,50	4,67
Grupos Acetilo	0,6178	0,6671	0,64	1,92
Lenhina Klson	8,1478	7,9116	8,03	0,75
Humidade	0,0495	0,0495	0,05	0,00

Amostra: Malte**Tabela 13** – Resultados para determinação da humidade (%) na amostra de dreche de malte.

PCS	PAH	PCS+AS	H	H média (%)	P seco (%)
21,7133	1,0011	22,6643	0,0500		
29,4065	1,0176	30,3719	0,0513	5,07	94,93

PCS – Peso caixa seca

PAH – Peso amostra húmida

AS – Amostra seca

H – Humidade

P – Peso

Tabela 14 – Resultados para determinação da cinza (%) na amostra de dreche de malte.

CINZA						
n°	PCS	PAH	PCS+AS	Cinza	Cinza média (%)	Pseco (%)
11	21,7133	1,0011	21,7439	0,0306		
BI	29,4065	1,0176	29,4391	0,0320	3,13	96,87

PCS – Peso caixa seca

PAH – Peso amostra húmida

AS – Amostra seca

H – Humidade

P – Peso

Tabela 15 – Dados para o cálculo das % de polissacáridos (Gn, Xn, Ara, grupos acetilo e lenhina) no resíduo sólido da amostra de dreche de malte.

Hidrólise ácida quantitativa resíduo sólido		
PAH	0,5	0,4999
Psolução	147,57	147,587
P tot antes	386,758	388,065
P tot dep.	382,911	383,975
Psolução'	143,248	143,022
Pcadinho seco	29,3138	29,3467
PCLKseco	29,3618	29,4045
PCCseco	29,3124	29,3492
Humidade	0,0507	0,0507
Cinzas	---	0,4748

PAH – Peso amostra húmida

H – Humidade

P – Peso

C – Caixa

LK – Lenhina Klason

Tabela 16 – Dados obtidos por HPLC para teores de Gn, Xn, Ara e Grupos acetilo na amostra de dreche de malte.

Área das amostras no HPLC	Concentração amostras (g/L)			
Glucose	1,3429	1,2998	1,343	1,300
Xilose	0,4508	0,4617	0,451	0,462
Arabinose	0,0083	0,0099	0,008	0,010
Acético	0,1210	0,1217	0,121	0,122

Tabela 17 – Resultados do teor de glucano, xilano, arabinano, grupos acetilo, lenhina Klason e humidade da dreche de malte (com base nos dados das tabelas 13, 14, 15 e 16).

Dados das amostras (Expressos em %)				
			Valor médio	Erro relativo (%)
Glucano	37,7444	36,4838	37,11	1,73
Xilano	12,9854	13,2799	13,13	1,11
Arabinano	0,2393	0,2836	0,26	7,82
Grupos Acetilo	3,5737	3,5890	3,58	0,11
Lenhina Klson	10,4074	11,6527	11,03	2,67
Humidade	0,0507	0,0507	0,05	0,00

Amostra: Dreche Sagres ensilada**Tabela 18** – Resultados para determinação da humidade (%) na amostra de dreche da Sagres ensilada.

PCS	PAH	PCS+AS	H	H média (%)	P seco (%)
9,7106	1,0034	10,639	0,0747		
25,8646	1,0192	26,8065	0,0758	7,53	92,47

PCS – Peso caixa seca

PAH – Peso amostra húmida

AS – Amostra seca

H – Humidade

P – Peso

Tabela 19 – Resultados para determinação da cinza (%) na amostra de dreche da Sagres ensilada.

PCS	PAH	PCS+AS	Cinza	Cinza média (%)	P seco (%)
9,7106	1,0034	9,7409	0,0302		
25,8646	1,0192	25,8959	0,0307	3,05	96,95

PCS – Peso caixa seca

PAH – Peso amostra húmida

AS – Amostra seca

H – Humidade

P – Peso

Tabela 20 – Dados para o cálculo das % de polissacáridos (Gn, Xn, Ara, grupos acetilo e lenhina) no resíduo sólido da amostra de dreche da Sagres ensilada.

Hidrólise ácida quantitativa residuo sólido		
PAH	0,5	0,5003
P solução	147,61	147,595
P total antes	398,879	399,456
P total depois	397,617	396,984
Psolução'	145,886	144,660
Pcadinho seco	29,2602	29,3418
PCLKseco	29,3575	29,4366
PCCseco	29,2944	29,3744
Humidade	0,0753	0,0753
Cinzas	6,3250	6,0255

PAH – Peso amostra húmida

H – Humidade

P – Peso

C - Caixa

LK – Lenhina Klason

Tabela 21 – Dados obtidos por HPLC para teores de Gn, Xn, Ara e Grupos acetilo na amostra de dreche da Sagres ensilada.

	Área das amostras no HPLC		Concentração amostras (g/L)			
	Glucose	0,6451	0,6472	0,6198	0,6164	0,646
Xilose	0,4490	0,4520	0,4489	0,4454	0,451	0,447
Arabinose	0,1922	0,1981	0,2062	0,2149	0,195	0,211
Acético	0,0439	0,0463	0,0334	0,0388	0,045	0,036

Tabela 22 – Resultados do teor de glucano, xilano, arabinano, grupos acetilo, lenhina Klason e humidade da drecche da Sagres ensilada (com base nos dados das tabelas 18, 19, 20 e 21).

Dados das amostras (expressos em %)				
			Valor médio	Erro relativo (%)
Glucano	18,9886	18,0001	18,49	2,75
Xilano	13,5675	13,3434	13,46	0,84
Arabinano	5,8762	6,2843	6,08	3,25
Grupos Acetilo	1,3909	1,1043	1,25	5,74
Lenhina Klson	13,6476	13,4449	13,55	0,38
Humidade	0,0753	0,0753	0,08	0,00

Amostra: Malte e Trigo Ensilada**Tabela 23** – Resultados para determinação da humidade (%) na amostra de drecche de malte e trigo ensilada.

PCS	PAH	PCS+AS	H	H média (%)	P seco (%)
14,1899	1,0067	15,1654	0,0310		
16,8857	1,0172	17,8715	0,0309	3,09	96,91

PCS – Peso caixa seca

PAH – Peso amostra húmida

AS – Amostra seca

H – Humidade

P – Peso

Tabela 24 – Resultados para determinação da cinza (%) na amostra de drecche de malte e trigo ensilada.

PCS	PAH	PCS+AS	Cinza	Cinza média (%)	P seco (%)
14,1899	1,0067	14,2178	0,0277		
16,8857	1,0172	16,9142	0,0280	2,79	97,21

PCS – Peso caixa seca

PAH – Peso amostra húmida

AS – Amostra seca

H – Humidade

P – Peso

Tabela 25 – Dados para o cálculo das % de polissacáridos (Gn, Xn, Ara, grupos acetilo e lenhina) no resíduo sólido da amostra de dreche de malte e trigo ensilada.

Hidrólise ácida quantitativa residuo sólido		
PAH	0,5008	0,5006
Psolução	147,588	147,581
P total antes	411,097	417,736
P total depois	411,021	417,736
Psolução'	147,027	147,096
Pcadinho seco	29,8104	28,8860
PCLKseco	29,9149	28,9789
PCCseco	29,8161	28,8913
Humidade	0,0309	0,0309
Cinzas	1,1030	1,0260

PAH – Peso amostra húmida

H – Humidade

P – Peso

C - Caixa

LK – Lenhina Klason

Tabela 26 – Dados obtidos por HPLC para teores de Gn, Xn, Ara e Grupos acetilo na amostra de dreche de malte e trigo ensilada.

	Área das amostras no HPLC		Concentração amostras (g/L)			
Glucose	0,8586	0,8592	0,8717	0,8722	0,859	0,872
Xilose	0,5095	0,5098	0,5136	0,5158	0,510	0,515
Arabinose	0,2875	0,2975	0,2975	0,2966	0,293	0,297
Acético	0,1535	0,1184	0,2428	0,0372	0,136	0,140

Tabela 27 – Resultados do teor de glucano, xilano, arabinano, grupos acetilo, lenhina Klason e humidade da drecche de malte e trigo ensilada (com base nos dados das tabelas 23, 24, 25 e 26).

Dados das amostras (expressos em %)				
			Valor médio	Erro relativo (%)
Glucano	24,2342	24,6228	24,43	0,79
Xilano	14,7372	14,8956	14,82	0,53
Arabinano	8,4577	8,5968	8,53	0,81
Grupos Acetilo	4,0325	4,1540	4,09	0,74
Lenhina Klason	20,3581	18,0575	19,21	6,37
Humidade	0,0309	0,0309	0,03	0,00

Quantificação dos ácidos presentes nas drecches ensiladas

Tabela 28 – Dados da extração aquosa dos compostos solúveis produzidos durante a ensilagem

Para o cálculo da quantidade de ácido por 100 g de amostra seca							
	Ácidos	Conc. Ácidos (g/L)	Sólido*	Humidade	Sólido seco (g)	Água adicionada (g)**	Ácido (g/100 g m.s.)
Sagres	Láctico	0,6926	35	64,45	12,44	105	5,84
	Acético	0,85920	35	64,45	12,44	105	7,25
	Propiónico	0,04295	35	64,45	12,44	105	0,36
Malte + Trigo	Láctico	2,32313	145	70,39	42,93	436,008	23,59
	Acético	0,28466	145	70,39	42,93	436,008	2,89
	Propiónico	0,08863	145	70,39	42,93	436,008	0,90

* quantidade de sólido utilizada para a lavagem e extracção dos ácidos (amostra representativa)

** para extracção dos ácidos