



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Gerbson Vicente de Andrade Silva

Extração e concentração de compostos bioativos a partir de *trub* quente de cervejaria

Florianópolis
2022

Gerbson Vicente de Andrade Silva

Extração e concentração de compostos bioativos a partir de *trub* quente de cervejaria

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Alan Ambrosi, Dr.
Coorientadora: Giordana Demaman Arend, Dra.

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Silva, Gerbson Vicente de Andrade

Extração e concentração de compostos bioativos a partir de trub quente de cervejaria / Gerbson Vicente de Andrade Silva ; orientador, Alan Ambrosi , coorientadora, Giordana Demaman Arend , 2023.

77 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Engenharia de Alimentos. 2. Humulus lupulus. 3. trub quente. 4. compostos fenólicos. 5. extração verde. I. , Alan Ambrosi. II. , Giordana Demaman Arend. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. IV. Título.

Gerbson Vicente de Andrade Silva

Extração e concentração de compostos bioativos a partir de *trub* quente de cervejaria

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 21 de dezembro de 2022, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Kátia Rezzadori, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Patrícia Poletto, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Profa. Jaciane Lutz Lenczack, Dra.
Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof. Alan Ambrosi, Dr.
Orientador(a)

Florianópolis
2022

Dedico esta obra aos meus amigos, meus amados pais Jacinto e Josefa e a minha família.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pai celestial que sempre esteve presente em todo caminho de minha vida. Por ter me abençoado com mais uma de suas dádivas. Em que nos momentos difíceis nunca me abandonou, me dando Sua mão para seguir no caminho certo.

Aos meus pais Jacinto e Josefa Silva, pela sua dedicação, carinho, amor e toda forma de sentimentos de pura bondade a mim depositados, por ter me dado o dom da vida.

Aos meus irmãos Gerson, Jaqueline e Geovane Silva pela confiança, apoio e incentivo durante toda jornada, sempre me falando “vai dar tudo certo mininu” fé em Deus.

A toda minha família Andrade Silva que contribuiu de todas as formas para que este sonho concretizasse, me apoiando nesta e nas futuras jornadas.

Ao amigo Callebe Camelo, por ter me ajudado em todos os momentos, estando sempre presente ao meu lado me proporcionando alegria, considero-o irmão.

Aos orientadores e amigos Alan Ambrosi, Giordana Arend e Marco Di Luccio, por me dar confiança para seguir em frente, e nunca desistir de mim. Pelo empenho e dedicação, acima de tudo pela paciência que tiveram comigo, espero cultivar essa amizade para sempre. Ao professor e amigo Acácio Zielinski, pelo tempo e disponibilidade, e por ter contribuído de forma significativa na realização deste sonho, levarei esta amizade para todo sempre. A minha amiga Priscila Souza, que contribuiu de perto com a condução de experimentos, obrigado de coração.

Aos laboratórios LABSEM e LATESC, locais onde desenvolvi maior parte da pesquisa, obrigado a todos de coração. Foi nestes ambientes que também encontrei amizade verdadeira, momentos de muito aprendizado, felicidade que carrego pelo resto da vida; tenho certeza de que são casa, sem dúvida, dos melhores profissionais que tive oportunidade de conhecer. Agradecemos também ao laboratório PPGQ pelo apoio em nossa pesquisa.

Ao Cláudio Ebert e a equipe da cervejaria Kairós, nossa inovação e o desenvolvimento de tecnologias só aconteceu devido a sua parceria e fidelidade, agradecemos a confiança que nos ajudou a evoluir.

Ao vínculo de amizade que aconteceu no CTC e em Florianópolis neste curto tempo de pós-graduação, obrigado por fazer parte da vida, amigo sem dúvida é um presente de Deus.

À Universidade Federal de Santa Catarina pela oportunidade de realizar este curso, a todo corpo Docente, Direção e a Administração, que realizam seu trabalho com dedicação e incansavelmente para que seus frutos sejam realizados tanto pessoalmente como profissionalmente.

“Se cheguei até aqui foi porque me apoiei no ombro dos gigantes”

(Isaac Newton, 1676)

RESUMO

A cerveja é a bebida alcoólica mais consumida mundialmente, sendo o Brasil o terceiro maior produtor mundial. Entretanto, o setor cervejeiro é responsável pela geração de uma quantidade considerável de resíduos. Dentre estes, os provenientes do uso de lúpulo ainda são poucos estudados e merecem atenção, pois possuem em sua composição altos teores de proteínas e compostos bioativos. Esta pesquisa investigou as características do *trub* quente, gerado na etapa de fervura, bem como a aplicação de processo de extração assistida por ultrassom (EAU), seguida de separação e concentração de compostos de elevado valor biológico, especialmente compostos fenólicos, usando nanofiltração. Verificou-se que o *trub* quente é constituído por elevado teor de água e considerável fração proteica, além de alto valor de acidez e condutividade elétrica. Ao avaliar as características bioativas da fração sólida do mesmo, obteve-se teor de compostos fenólicos totais (CFT) de $0,39 \pm 0,01$ mg GAE g⁻¹ e teor de flavonoides de totais $18,04 \pm 0,78$ mg 100 g⁻¹. A melhor condição de extração de CFT foi obtida a partir da otimização de parâmetros de um planejamento Box-Behnken, resultando em razão sólido:líquido 3:20, concentração de etanol de 90% e temperatura de 60 °C, resultando em um extrato contendo 24,13 mg GAE g⁻¹. Na etapa de nanofiltração, o fluxo médio de permeado variou entre 2,69 e 0,99 kg m⁻² h⁻¹ em pressão constante de 18 bar à 25 °C. Neste processo, o fator de redução de volume (FRV) e o fator de concentração de CFT foram iguais a 1,43 e 1,14, respectivamente, tendo a membrana mostrado rejeição de aproximadamente 90% aos CFT. Complementarmente, o teor de flavonoides totais apresentou comportamento semelhante ao dos CFT, ou seja, maiores teores foram encontrados na fração concentrada, seguidos de alimentação e permeado do PSM. Estes resultados mostram a eficácia da separação de compostos bioativos durante o uso de processos com membranas, o que abre oportunidades para pesquisas futuras.

Palavras-chave: *Humulus lupulus*; *trub* quente; compostos fenólicos; extração verde.

ABSTRACT

Beer is the most consumed alcoholic beverage worldwide, with Brazil being the third largest producer in the world. However, the brewing sector is responsible for generating a considerable amount of waste. Among these, those from the hop utilization are still few studied and deserve attention, as they have high levels of proteins and bioactive compounds in their composition. This research investigated the characteristics of hot trub as well as the application of an ultrasound-assisted extraction process (UAE), followed by the separation and concentration of compounds of high biological value, especially phenolic compounds, using nanofiltration. The by-product consists of high-water content and considerable protein fraction, in addition to high acidity value and electrical conductivity. When evaluating the bioactive characteristics of the by-product, total phenolic compounds (CFT) content of 0.39 ± 0.01 mg GAE g^{-1} and flavonoid content of a total of 18.04 ± 0.78 mg $100 g^{-1}$ were obtained. The best CFT extraction condition was obtained from the optimization of parameters of Box-Behnken planning, resulting in a solid: liquid ratio of 3:20, an ethanol concentration of 90%, and a temperature of 60 °C resulting in an extract containing 24.13 mg GAE g^{-1} . In the nanofiltration stage, the average permeate flow varied from 2.69 to 0.99 $kg m^{-2} h^{-1}$ at constant pressure from 18 bar to 25 °C. In this process, the volume reduction factor (FRV) and the CFT concentration factor were equal to 1.43 and 1.14, respectively, and the membrane showed a rejection of approximately 90% to the CFT. In addition, the total flavonoid content showed a behavior similar to the CFT, i.e., higher levels were found in the concentrated fraction, followed by feed and permeate streams. These results show the efficacy of the separation of bioactive compounds during the use of membrane processes, which opens opportunities for future research.

Keywords: *Humulus lupulus*; hot trub; phenolic compounds; green extraction.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma geral do processo de produção de cerveja.	20
Figura 2 - Estrutura química dos α e β ácidos, principais constituintes do lúpulo.	23
Figura 3 - Classificação de compostos bioativos presentes em alimentos de origem vegetal.	25
Figura 4 - Estrutura básica de um flavonoide.	25
Figura 5 - Potenciais benefícios do xanthohumol para saúde humana.	27
Figura 6 - Reação de isomerização térmica do xanthohumol em isoxanthohumol.	29
Figura 7 - Estabilização do radical livre DPPH por dissolução do reagente em meio orgânico.	31
Figura 8 - Estabilização do cátion radical ABTS ⁺ reagindo com um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.	31
Figura 9 - Representação e fotografia de equipamento de extração assistida por ultrassom (EAU).	35
Figura 10 - Filtração por membrana a) Filtração convencional (dead-end filtration) e b) filtração tangencial (crossflow Filtration).	37
Figura 11 - Processos de separação por membranas aplicados no tratamento de fluidos líquidos, com indicativo de uso e pressão aplicada.	38
Figura 12 - Diagrama esquemático do equipamento de EAU.	44
Figura 13 - Diagrama esquemático do equipamento de separação por membranas.	46
Figura 14 - Resíduo <i>trub</i> quente de cervejeira, antes e após centrifugação.	48
Figura 15 - Amostras finais dos extratos do <i>trub</i> quente após a extração assistida por ultrassom (EAU), ensaios de 1 a 15.	53
Figura 16 - Efeitos estimados e de interação sob o teor de compostos fenólicos totais.	55
Figura 17 - Superfícies de resposta e curvas de contorno mostrando o efeito de variáveis independentes no teor de compostos fenólicos totais.	56
Figura 18 - Perfis para os valores preditos e a função desejabilidade.	57
Figura 19 - Fluxo permeado de etanol 90% médio na compactação.	58
Figura 20 - Fluxo permeado médio em função do tempo obtida para a membrana de nanofiltração a pressão de 18 bar.	59
Figura 21 - Membrana polimérica NFW antes e após o processo de permeação.	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química dos principais resíduos gerados na cervejaria.	22
Tabela 2 - Bioatividade e efeitos farmacológicos do xanthohumol e outros compostos do lúpulo relatados na literatura.	28
Tabela 3 - Visão geral dos métodos de recuperação de moléculas ativas de lúpulo e subprodutos cervejeiros sendo investigados.....	33
Tabela 4 - Principais reagentes químicos utilizados nos experimentos.....	40
Tabela 5 - Matriz do planejamento experimental Box-Behnken aplicado para a extração assistida por ultrassom (EAU).....	44
Tabela 6 - Composição centesimal e características físico-químicas do <i>trub</i> quente.	49
Tabela 7 - Compostos fenólicos e capacidade antioxidantes do <i>trub</i> quente.	50
Tabela 8 - Matriz do planejamento experimental Box-Behnken, com suas respectivas variáveis de entrada e a variável resposta (CFT).....	53
Tabela 9 - Caracterização das frações obtidas por nanofiltração quanto a concentração de compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides, e atividade antioxidante método de DPPH e ABTS.	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HPLC-DAD: High-Performance Liquid Chromatography coupled with Diode-Array Detection

HPLC-ESI-MS/MS: High-Performance Liquid Chromatography coupled with Electrospray Ionization Tandem Mass Spectroscopy

HPLC-HSCCC: Liquid Chromatography coupled high-speed counter-current chromatography

HPLC-MS/MS: Liquid Chromatography coupled with Tandem Mass Spectroscopy

HPLC: High-Performance Liquid Chromatography

SUMÁRIO

	DIAGRAMA CONCEITUAL	15
1	INTRODUÇÃO	16
1.1	OBJETIVO GERAL	17
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1	PRODUÇÃO DE CERVEJA	19
2.1.1	Aspectos gerais	19
2.1.2	Resíduos da indústria cervejeira	21
2.2	COMPOSTOS FENÓLICOS	24
2.3	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	30
2.4	METODOLOGIAS POTENCIAIS PARA EXTRAÇÃO DE BIOATIVOS	32
2.5	EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM	35
2.6	PROCESSO DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS	36
3	MATERIAL E MÉTODOS	40
3.1	MATERIAL	40
3.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO <i>TRUB</i> QUENTE	41
3.2.1	Umidade	41
3.2.2	Resíduo mineral fixo	41
3.2.3	Potencial Hidrogeniônico (pH)	41
3.2.4	Condutividade elétrica	41
3.2.5	Acidez total	41
3.2.6	Teor de nitrogênio total	41
3.2.7	Teor de lipídios	42
3.2.8	Teor de fibra bruta	42
3.2.9	Teor de carboidratos	42
3.3	COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	42
3.3.1	Teor de compostos fenólicos totais	42
3.3.2	Teor de flavonoides totais	42
3.3.3	Atividade antioxidante DPPH	43
3.3.4	Atividade Antioxidante ABTS	43
3.4	EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM (EAU)	43
3.5	PROCESSO DE SEPARAÇÃO COM MEMBRANAS (PSM)	45

3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	47
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4.1	PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA	48
4.2	CARACTERIZAÇÃO DO <i>TRUB</i> QUENTE	48
4.2.1	Caracterização centesimal e físico-química	48
4.2.2	Compostos bioativos	50
4.3	EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM	52
4.4	CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS	58
4.4.1	Teste preliminares	58
4.4.2	Avaliação de fluxo permeado.....	58
	CONCLUSÃO.....	63
	REFERÊNCIAS.....	64
	APÊNDICE	77

DIAGRAMA CONCEITUAL

Extração e concentração de compostos bioativos a partir de *trub* quente de cervejaria

Por quê
<p>Aproveitamento e agregação de valor a subprodutos.</p> <p>Utilizar tecnologia ecologicamente correta na recuperação de compostos fenólicos.</p> <p>Utilizar processo com membrana para concentrar os compostos fenólicos.</p>
Quem já fez
<p>Não foram encontrados trabalhos na literatura que demonstram a recuperação de compostos fenólicos a partir de <i>trub</i> quente de cervejaria e a sua concentração utilizando processo de separação por membranas.</p>
Hipóteses
<p>É possível recuperar compostos bioativos do <i>trub</i> quente de cervejaria por meio da técnica de extração assistida por ultrassom e solvente verde (etanol).</p> <p>É possível concentrar os compostos bioativos (fenólicos totais e flavonoides) recuperados, utilizando o processo de nanofiltração.</p>
Métodos experimentais
<p>Caracterizar o <i>trub</i> quente em características centesimais, físico-químico e bioativas.</p> <p>Utilizar a técnica de extração assistida por ultrassom e solvente verde (etanol) a partir de um planejamento de experimentos em Box-Behnken.</p> <p>Usar processo de nanofiltração para concentrar extrato contendo compostos bioativos.</p> <p>Caracterizar as diferentes frações obtidas dos processos de nanofiltração.</p>
Respostas
<p>Características de composição, físico-química e concentração de compostos bioativos do <i>trub</i> quente de cervejaria.</p> <p>Condições de processo de extração assistida por ultrassom otimizadas.</p> <p>Avaliação do processo de separação por membranas de nanofiltração.</p> <p>Quantificação dos compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante presentes nas frações pelos métodos ABTS e DPPH.</p>

1 INTRODUÇÃO

A cerveja é a bebida alcoólica mais consumida mundialmente. A compra de pequenas cervejarias artesanais por grandes cervejarias tem feito com que o mercado cervejeiro tenha destaque e se expanda pelo mundo, tendo como consequência um elevado volume de produção anual (TADEI *et al.*, 2020). O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de cerveja com cerca de 14 bilhões de litros ao ano, e vem apresentando um crescimento da atividade cervejeira artesanal nos últimos anos (DURELLO; SILVA; BOGUSZ JR., 2019).

Segundo o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em 2020, o Brasil chegou a um total de 1.383 cervejarias registradas, o que representa um crescimento de 14,5% em relação a 2019. Apenas o estado de Santa Catarina apresentou um crescimento de 148 para 175 indústrias de cerveja, um crescimento de 32% (BRASIL, 2021). Estes números estão atrelados aos avanços tecnológicos e facilidades na fabricação do produto (SAATH; FACHINELLO, 2018), além da maior disponibilidade de matéria-prima, entre elas o malte, o lúpulo e as leveduras (DURELLO; SILVA; BOGUSZ JR., 2019).

Os setores agroindustriais são responsáveis pela geração de grande quantidade de resíduos, e um dos principais problemas é impacto ambiental ocasionado caso o seu manejo seja inadequado. Além disso, adequar corretamente o destino dos resíduos tem um alto custo para o setor. Recentemente, inúmeros processos tecnológicos vêm sendo empregados no intuito de diminuir a produção de resíduos. Porém, como alguns resíduos são parte inerente do processo, buscam-se alternativas para reutilizá-los (RECH; ZORZAN, 2017). Muitos dos resíduos gerados, por serem de origem vegetal, são ricos em compostos bioativos com alto valor nutricional que poderiam ser recuperados e aproveitados pela indústria, agregando valor aos produtos (COSTA *et al.*, 2020).

Na indústria cervejeira, os principais resíduos sólidos gerados na produção são o bagaço do malte, o “*trub*”, os lúpulos esgotados e a levedura esgotada, totalizando de 137 a 173 toneladas de rejeito para cada 1.000 toneladas de cerveja produzida. O alto teor de água desses resíduos coopera para a perda de produto e, conseqüentemente, para a geração de significativos volumes de rejeito (COSTA *et al.*, 2020; TRINDADE, 2016). Os resíduos são geralmente destinados à alimentação animal ou descartados em aterro. Porém, mesmo sendo utilizado como uma alternativa para a alimentação animal, a utilização deste pode levar a distúrbios no animal como, por exemplo acidose ruminal, laminite, botulismo, entre outros (TRUJILLO *et al.*, 2018).

Diversos estudos vêm sendo realizados visando a utilização direta de resíduos agroindustriais, ricos em compostos bioativos, como matéria-prima de outros produtos, contribuindo para que uma economia circular seja promovida no setor. A economia circular tem como objetivo a busca dos “R”s da sustentabilidade: reduzir, repensar, reaproveitar, reciclar e reusar materiais e energia. Como exemplo, Santos et al. (2017) investigaram o uso de bagaço de malte para elaboração de bolos. Rech e Zorzan (2017) otimizaram a composição nutricional de *cupcake* através da adição de farinhas de bagaço de malte e de farinha da levedura residual, possibilitando o desenvolvimento de um novo produto. Ainda, levedura residual foi suplementada para melhorar o valor nutritivo de sucos de beterraba e cenoura (RAKIN *et al.*, 2007).

Por outro lado, os relatos de reutilização de *trub* ou lúpulos esgotados são quase inexistentes. Um exemplo atual é o caso de uma microcervejaria brasileira que reutilizou lúpulo esgotado da produção de cerveja IPA para produzir uma cerveja de menor conteúdo de amargor, chamada de Session IPA (GINAK, 2020). Para agregar valor ao lúpulo gasto, a utilização sustentável deste é uma meta essencial na indústria de processamento de lúpulo (BARTMAŃSKA *et al.*, 2018; BEDINI *et al.*, 2015).

Associar a extração por solvente convencional, utilizando solventes “verdes” como o etanol, e suas variações como extração por ultrassom, a técnicas de separação, concentração e purificação de compostos com o uso de membranas é viável e mostra-se altamente promissora para a recuperação de compostos bioativos do *trub* e dos lúpulos esgotados.

Assim, este trabalho pode colaborar com os esforços realizados pelas governanças no âmbito de promover a produção de alimentos e o crescimento econômico sustentáveis, a industrialização inclusiva e de fomentar a inovação, relevantes nos objetivos 2, 8 e 9 da Agenda 2030 da ONU. Se por um lado o *trub* e os lúpulos esgotados constituem um resíduo da indústria agroalimentar que pode gerar elevado impacto ambiental ou alto custo para o descarte correto, por outro representa uma fonte interessante de compostos de elevado valor biológico. A obtenção desses compostos pode beneficiar a população em geral, seja a partir do consumo direto ou pelo consumo de produtos adicionados deles, como a própria cerveja.

1.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho é a extração e a concentração de compostos bioativos do resíduo *trub* da indústria cervejeira.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para alcançar o objetivo geral deste trabalho, os seguintes objetivos específicos foram delineados:

- a) realizar a caracterização centesimal, físico-química e de compostos bioativos do *trub* quente;
- b) extrair compostos bioativos usando extração assistida por ultrassom e solvente verde (etanol) a partir de um planejamento de experimentos em Box-Behnken;
- c) validar a extração a partir da extração realizada nas condições do ponto ótimo;
- d) avaliar o uso de nanofiltração para a concentração dos compostos fenólicos do extrato;
- e) caracterizar as frações obtidas no processo com membrana.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Este Capítulo apresenta os fundamentos teóricos relacionados à produção de cerveja, compostos fenólicos e capacidade antioxidante, além de metodologias para extração e concentração de compostos bioativos. Devido ao grande interesse dado recentemente a um dos compostos bioativos do lúpulo, o xanthohumol (XN), uma revisão da literatura com suas características e benefícios para consumo humano, principais técnicas de extração e suas vantagens e limitações, além da prospecção de estratégias de recuperação deste composto de a partir de resíduos sólidos da fabricação de cerveja, foi realizada. Grande parte das informações trazidas neste Capítulo foi compilada em um artigo científico intitulado “*Xanthohumol properties and strategies for extraction from hops and brewery residues: A review*”, publicado em outubro de 2022 na revista Food Chemistry (Fator de impacto 9,231).

2.1 PRODUÇÃO DE CERVEJA

2.1.1 Aspectos gerais

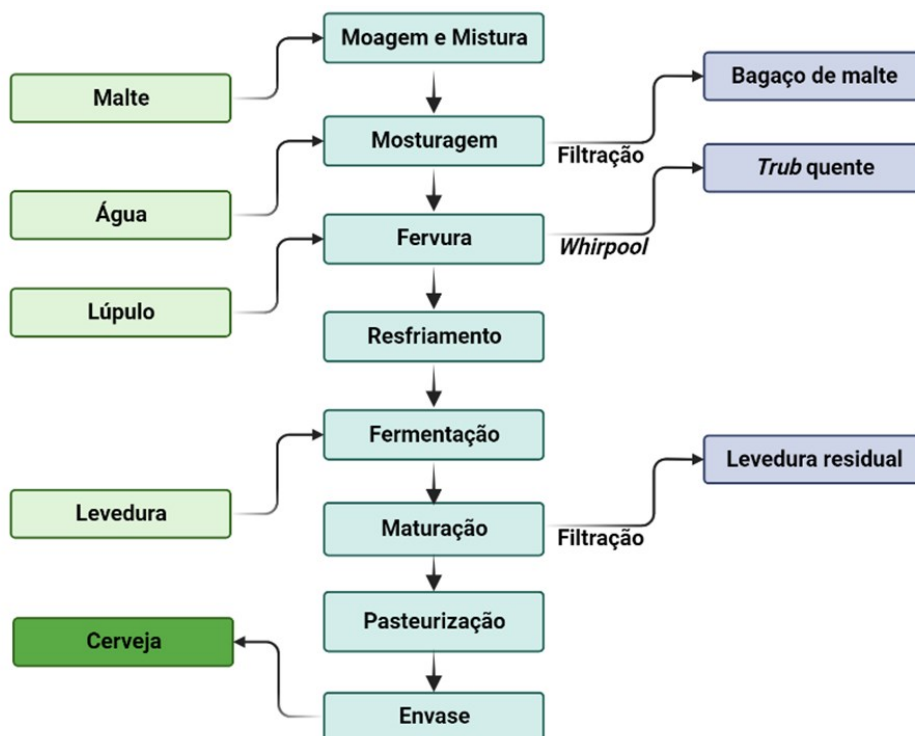
Conforme o Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, a cerveja é definida como bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação da levedura, com adição de lúpulo (BRASIL, 2009).

O setor cervejeiro do Brasil tem demonstrado expressivo crescimento nos últimos anos. Em 2021, contabilizou um mercado de R\$180 bilhões, cerca de 2,1% do PIB nacional, no qual a indústria cervejeira vendeu 14,8 bilhões de litros de cerveja (BRANDÃO, 2021). Em 2020, houveram 174 novas cervejarias registradas. No país, a maior concentração destes estabelecimentos está localizada na região Sul-Sudeste, sendo Santa Catarina a quarta colocada, com 175, seguida por Minas Gerais (178), Rio Grande do Sul (258) e São Paulo (285) (BRASIL, 2021). Segundo projeções realizadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o crescimento no número de cervejarias pode variar entre 19 e 36% por ano, alcançando um total de 7504 cervejarias no ano de 2025 (BRASIL, 2021). Os números são significativos e fazem com que o País mantenha sua posição de terceiro maior produtor mundial de cervejas (BRASIL, 2021).

A cevada pode ser parcialmente substituída por outros tipos de cereais, maltados ou não maltados, denominados adjuntos, como milho, arroz, trigo, aveia ou sorgo, cujo emprego não poderá ser superior a 45% em relação ao malte de cevada, sendo esta principal fonte de

açúcares. Esse procedimento é adotado por razões econômicas ou pela intenção de conferir características sensoriais distintas (MUSSATTO; ROBERTO, 2006; SIQUEIRA *et al.*, 2008). De maneira geral, o processo produtivo pode ser descrito em 8 etapas, as quais estão mostradas na Figura 1.

Figura 1 - Fluxograma geral do processo de produção de cerveja.



Fonte: Adaptado de Marson et al. (2020)

Durante a moagem, o malte tem seu tamanho reduzido visando tornar suas partículas acessíveis à água, expondo toda a porção do endosperma e facilitando a atuação das enzimas. Na etapa de mosturação, que consiste na mistura dos grãos moídos em água, o binômio temperatura e tempo é controlado (entre 40 e 72 °C e de 30 a 90 minutos) visando ativar diferentes grupos de enzimas para realizarem o processo de hidrólise, em particular de carboidratos complexos. A finalização da etapa ocorre entre 76 e 78 °C para inativação enzimática. A mistura é então direcionada para a etapa de filtração, resultando na geração do bagaço do malte, um dos resíduos da indústria cervejeira amplamente investigado como fonte de compostos de interesse para a indústria alimentícia. Logo após, inicia-se a etapa de fervura, na qual o lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é adicionado para extrair compostos de sabor e amargor, bem como diminuir o gosto doce e enjoativo do mosto. Nesse estágio também ocorre a

concentração e estabilização do mosto cervejeiro a partir da coagulação das proteínas. No estágio de *whirpool*, algumas proteínas agregadas, lúpulos e outros sólidos são separados, sendo formado então outro subproduto, o *trub* quente, o qual possui significativa atividade biológica (MARSON *et al.*, 2020; MUSSATTO; ROBERTO, 2006).

O mosto é então resfriado para evitar a oxidação e aerado para adicionar as leveduras e iniciar a etapa conhecida como fermentação. Nesse processo, os açúcares são convertidos em álcool etílico e dióxido de carbono, além de outras centenas de reações paralelas que conferem ao produto sabor e aroma distintos. Esta etapa normalmente leva cerca de 3 a 15 dias para ser concluída, variando com o tipo de cerveja produzida. Leveduras e outras partículas decantam no fundo do tanque de fermentação ou ainda flutuam até a superfície, constituindo outro subproduto, a levedura residual (FERREIRA *et al.*, 2010). Em seguida, a cerveja segue para o tanque de maturação, em baixas temperaturas, permitindo o desenvolvimento do sabor, encorpamento e a insolubilização de proteínas e polifenóis. Aqui também ocorre a separação dos precursores da turbidez na cerveja crua, por meio de filtração, seguida de pasteurização e finalmente o engarrafamento (MARSON *et al.*, 2020; MATHIAS, 2015; VIVIAN *et al.*, 2016).

2.1.2 Resíduos da indústria cervejeira

Após as etapas de processamento, a matéria-prima esgotada se torna resíduo da indústria cervejeira, sendo que os principais resíduos sólidos gerados são o bagaço do malte, o *trub* e a levedura esgotada, totalizando entre 137 a 173 toneladas para cada 1.000 toneladas de cerveja produzida, representando em torno de 14 a 17% do volume total (JURADO; SØRENSEN, 2012). Ainda, se a cervejaria utiliza a técnica de *dry hopping*, há geração de outra fração de resíduos, os lúpulos esgotados (MACHADO *et al.*, 2019). Os resíduos são retirados da cervejaria e geralmente destinados, em parte, à alimentação animal, descartados em aterro ou tratados em sistemas biológicos de decomposição, fins que não contribuem para a sustentabilidade da cadeia e geram custos significativos. Se por um lado o material residual gerado na cervejaria é considerado “esgotado” em relação aos compostos de maior interesse pra cerveja, ainda contém quantidades consideráveis de variados compostos que podem ser de valia para outras indústrias, ou até mesmo para a própria indústria cervejeira (CIMINI; MORESI, 2021). Alguns exemplos incluem ingredientes bioativos como ácidos fenólicos presentes no malte (ácido hidroxicinâmico, ácido p-cumárico, ácido sináptico e caféico) (BARTOLOMEÉ *et al.*, 2002; SZWAJGIER; BOROWIEC, 2012), aminoácidos e peptídeos presentes nas leveduras (AVRAMIA; AMARIEI, 2021), proteínas e compostos fenólicos, como

o xanthohumol, presentes no *trub* e lúpulos esgotados (MOENS *et al.*, 2020; WANNENMACHER; GASTL; BECKER, 2018). A Tabela 1 apresenta a composição química dos três principais resíduos gerados na cervejaria.

Tabela 1 - Composição química dos principais resíduos gerados na cervejaria.

Componente (unidade)	Bagaço de malte	<i>Trub</i> quente/ Lúpulo gasto	Levedura esgotada
Mistura (g/100g)	75 – 90	80 – 90	74 – 86
Carboidratos (g/g DM)	0,45 – 0,61	0,20	0,40
Proteína (g/g DM)	0,14 – 0,30	0,40 – 0,70	0,15 – 0,49
Gordura (g/g DM)	0,06 – 0,13	0,05	0,04 – 0,10
Cinzas (g/g DM)	0,01 – 0,05	0,06 – 0,25	0,02 – 0,09
Fibra total (g/g DM)	0,44 – 0,84	0,23 – 0,26	0,25 – 0,53
Quantidade gerada (kg/hL de cerveja)	14 – 19	0,2 – 0,4	2 – 4

Mistura: resíduos com mosto; DM: malte seco; hL: hectolitro

Fonte: Adaptado de Cimini e Morsei (2021)

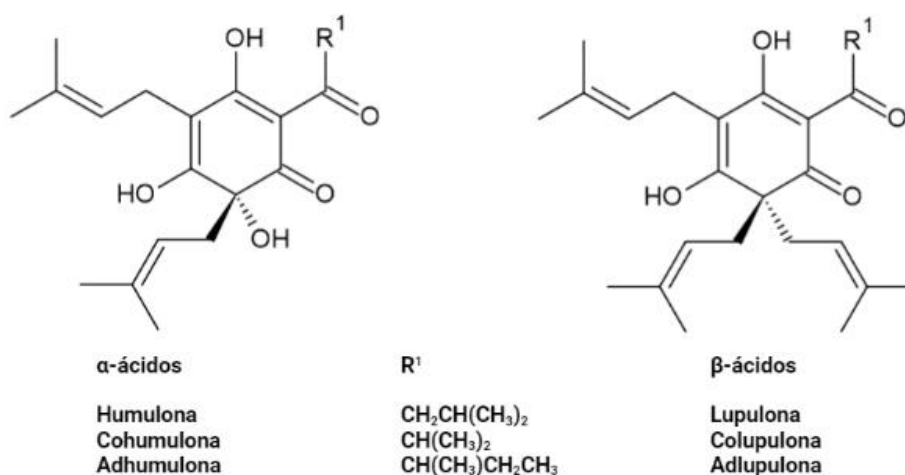
O bagaço de malte representa uma fração de 30% (m/m) de resíduo do grão maltado inicial, sendo normalmente vendido ou cedido para alimentação animal, adubação do solo, em menores proporções para elaboração alimentos funcionais, ou ainda, descartado em aterros. Devido à alta quantidade anual, o baixo valor comercial e a conscientização ambiental fazem com que o bagaço represente um coproduto de alto valor nutricional, podendo ser cada vez mais valorizado (COSTA *et al.*, 2020; FĂRCAȘ *et al.*, 2017).

A levedura esgotada, quando comparada ao baço do malte, tem um teor muito maior de proteínas, vitaminas e aminoácidos, sendo largamente empregada na alimentação animal e suplementação alimentar após secagem. Porém, a adição do levedo em produtos alimentares é limitada pela quantidade de ácido nucleico. A ingestão de ácido ribonucleico (RNA) por humanos pode levar ao desenvolvimento de uma doença reumática conhecida popularmente como “gota”, uma vez que este é metabolizado em ácido úrico (MUSSATTO, 2009).

O resíduo conhecido como *trub* quente é obtido após a fervura do mosto, etapa na qual o lúpulo é adicionado. É nessa etapa que os metabólitos secundários do lúpulo são transformados em compostos de amargor, proporcionando estabilidade da espuma e conservação da bebida. Muitos desses metabólitos podem ser oxidados e/ou precipitados. Porém, outras substâncias de interesse podem ser degradadas devido às diferentes condições do processamento, sendo difícil traçar um padrão dos componentes do lúpulo após a fervura (DE KEUKELEIRC, 2000; STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015). Cerca de 85% dos constituintes do lúpulo não são solubilizados no mosto e são descartados juntamente com *trub* quente. Alguns exemplos incluem as lupulinas e os β -ácidos, que não são solúveis no mosto

devido ao seu pH ($\text{pH} \approx 5,2$) e não são isomerizados na etapa de fervura devido à ausência de um álcool terciário em seu núcleo aromático. Outro ponto importante é seu caráter mais hidrofóbico, devido a sua cadeia isoprenila adicional, quando comparada aos α -ácidos (Figura 2) (DURELLO; SILVA; BOGUSZ JR., 2019).

Figura 2 - Estrutura química dos α e β ácidos, principais constituintes do lúpulo.



Fonte: Adaptado de Costa et al. (2020)

Assim, o *trub* apresenta compostos insolúveis como proteínas de alta massa molecular que quando submetidas a temperaturas elevadas, perdem água de solvatação e são desnaturadas, além de outras substâncias solubilizadas do lúpulo, polifenóis, carboidratos, minerais e traços de ácidos graxos (COSTA *et al.*, 2020). Além do *trub*, lúpulos utilizados pelas cervejarias na técnica de “*dry hopping*” na produção de diversos estilos de cerveja, como Indian Pale Ale (IPA) e American Pale Ale (APA), têm gerado elevadas quantidades de resíduo com alta capacidade de recuperação de compostos de elevado valor nutricional, principalmente porque a técnica utiliza os lúpulos na sua forma natural, em flor, e é realizada em baixas temperaturas (MACHADO *et al.*, 2019).

Considerando-se os resíduos gerados na indústria cervejeira e seu impacto ambiental negativo, o *trub* e os lúpulos esgotados ainda são pouco explorados com relação às suas características e possibilidades de recuperação de compostos de interesse. Os teores e tipos de compostos presentes no *trub* são influenciados pelo tipo de malte, tipo de moagem, tipo e concentração de lúpulo, processos utilizados na produção da bebida, entre outros (MUDURA; COLDEA, 2015), evidenciando a necessidade de investigação de técnicas que possibilitem

recuperar compostos e agregar valor a estes resíduos. Entre as técnicas de extração, a utilização de solventes “verdes”, associada a processos de concentração/purificação baseados em membranas é altamente promissora.

2.2 COMPOSTOS FENÓLICOS

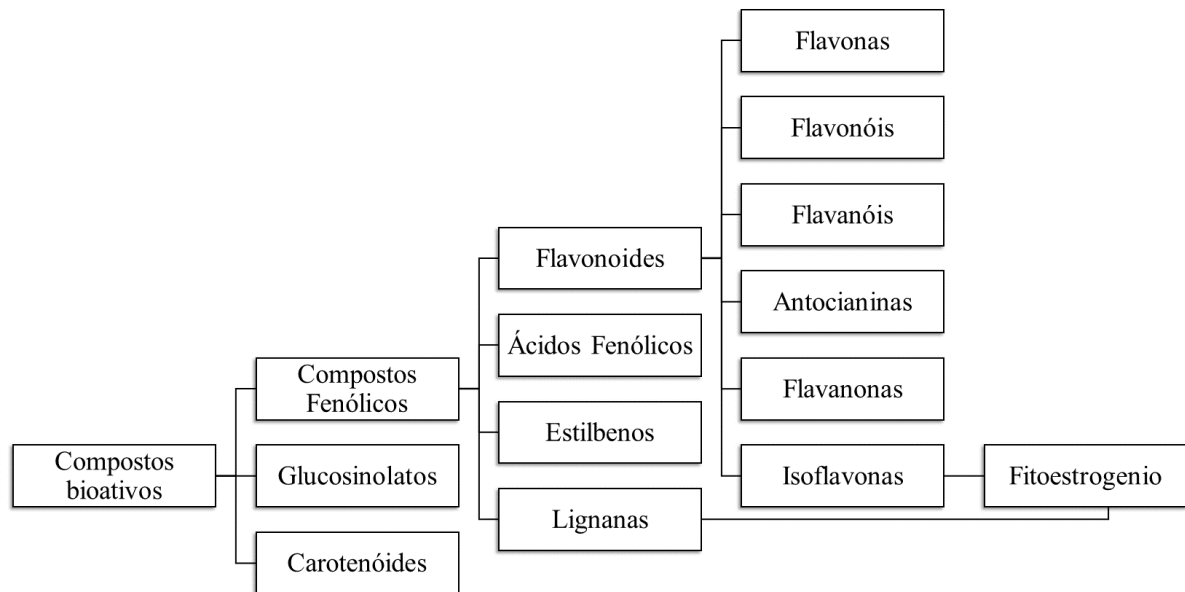
Compostos fenólicos são moléculas largamente encontradas em matrizes vegetais, sendo que existem aproximadamente 8000 estruturas fenólicas distintas. Estes estão recebendo crescente atenção de pesquisadores, uma vez que estão relacionados com as características sensoriais de alimentos e bebidas, bem como suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e sedativas (CAMELO-SILVA *et al.*, 2020).

Por serem substâncias originárias do metabolismo secundário de plantas, participam ativamente do crescimento, reprodução e pigmentação e são sintetizadas como uma resposta de defesa do organismo em condições de estresse, infecções, ferimentos, entre outras (COSTA *et al.*, 2020). Estas estruturas apresentam em sua cadeia pelo menos um anel aromático ligado a grupos hidroxila (-OH). Podem ser moléculas simples de baixa massa molar, como exemplo o ácido gálico, até moléculas com maior grau de polimerização como os glicosídeos e proteínas (COSTA, 2017; MARSON *et al.*, 2020; MATHIAS, 2015).

Devido à sua diversidade estrutural, resultante de várias combinações encontradas na natureza, os compostos fenólicos podem ser classificados em várias classes, incluindo fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados do ácido benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos hidrolisáveis e condensados, lignanas e ligninas, conforme mostrado na Figura 3 (AREND, 2016; COSTA *et al.*, 2020).

Os flavonoides são compostos fenólicos, representando uma grande classe de metabólitos secundários de plantas (ARRUDA *et al.*, 2021; RODRIGUES *et al.*, 2021) que podem desempenhar uma variedade de funções, como antioxidantes, agentes antibacterianos, fotorreceptores e agentes de proteção à radiação ultravioleta (ALMEIDA *et al.*, 2020; WANNENMACHER; GASTL; BECKER, 2018).

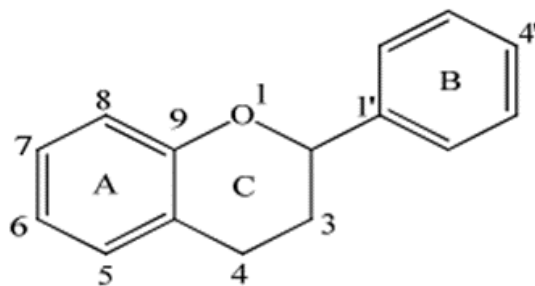
Figura 3 - Classificação de compostos bioativos presentes em alimentos de origem vegetal.



Fonte: Adaptado de Arend (2016).

A estrutura principal desses compostos consiste em dois anéis aromáticos (A e B), que são unidos por três átomos de carbono e um átomo de oxigênio para formar um heterociclo oxidado (C) chamado núcleo flavano (Figura 4) (COSTA *et al.*, 2020; KARABÍN *et al.*, 2013). Esses três anéis podem ser substituídos por grupos -OH, mais comumente seus átomos de carbono 3', 4', 5', 5 e 7, seguidos por metil, prenila, isoprenila e metoxi. A solubilidade dos flavonoides aumenta com o número de grupos -OH e ligações glicosídicas, enquanto sua hidrofobicidade aumenta com os grupos metil, prenila e/ou isoprenila (ARENDA, 2016; COSTA *et al.*, 2020; KARABÍN *et al.*, 2013).

Figura 4 - Estrutura básica de um flavonoide.



Fonte: Adaptado de Karabín (2013)

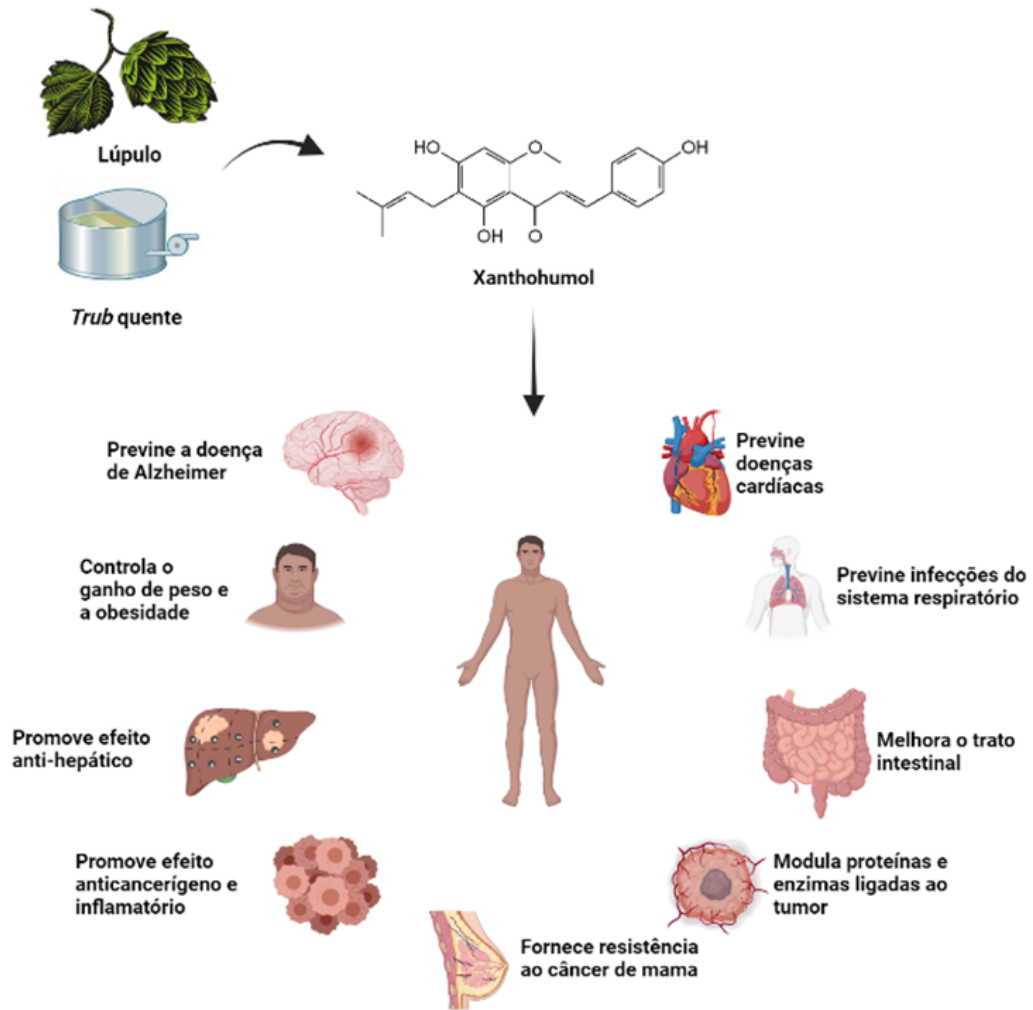
A atividade biológica dos flavonoides está intimamente relacionada à sua estrutura química, portanto, pequenas alterações estruturais podem levar a alterações em sua atividade (KARABÍN *et al.*, 2013; LEGETTE *et al.*, 2014; RODRIGUES *et al.*, 2021). Os compostos fenólicos do lúpulo, o qual representa cerca de 4% em massa seca das flores, podem ser distribuídas em subgrupos, como flavonoides, flavan-3-óis, taninos e ácidos fenólicos (DURELLO; SILVA; BOGUSZ JR., 2019). No lúpulo, os compostos fenólicos distribuem-se nas pétalas e no eixo central do cone de lúpulo, exceto os prenilflavonoides, como o XN, a ser destacado a seguir, encontrado majoritariamente nas glândulas de lupulina.

Os compostos fenólicos do lúpulo e do malte são responsáveis pela atividade antioxidante do mosto e da cerveja, protegendo-os de processos oxidativos, melhorando também a sua estabilidade e sabor (MARSON *et al.*, 2020; SIQUEIRA *et al.*, 2008). Em resumo, os ácidos fenólicos de baixa massa molar oriundos do lúpulo possuem potencial de sequestrar radicais livres, inibir as lipoxigenases e quelados metálicos de transição relacionados à processos oxidativos. Por outro lado, os fenólicos de alta massa molar do lúpulo podem reagir com proteína da cerveja, promovendo a instabilidade coloidal e turbidez (DURELLO; SILVA; BOGUSZ JR., 2019; KEUKELEIRE, 2000).

O xanthohumol é uma chalcona natural, exclusiva do lúpulo, e originada do composto base 1,3-difenil-2-propileno. A ingestão dessa chalcona tem se mostrado altamente promissora em dietas quimiopreventivas (DURELLO; SILVA; BOGUSZ JR., 2019; SIQUEIRA *et al.*, 2008). A Figura 5 retrata a flor do lúpulo, a estrutura química do XN e os principais efeitos farmacológicos que desempenham um papel importante na área da saúde (WEISKIRCHEN *et al.*, 2015).

A literatura aponta vários benefícios do XN (Figura 5) e alguns deles são mostrados e especificados na Tabela 2.

Figura 5 - Potenciais benefícios do xanthohumol para saúde humana.



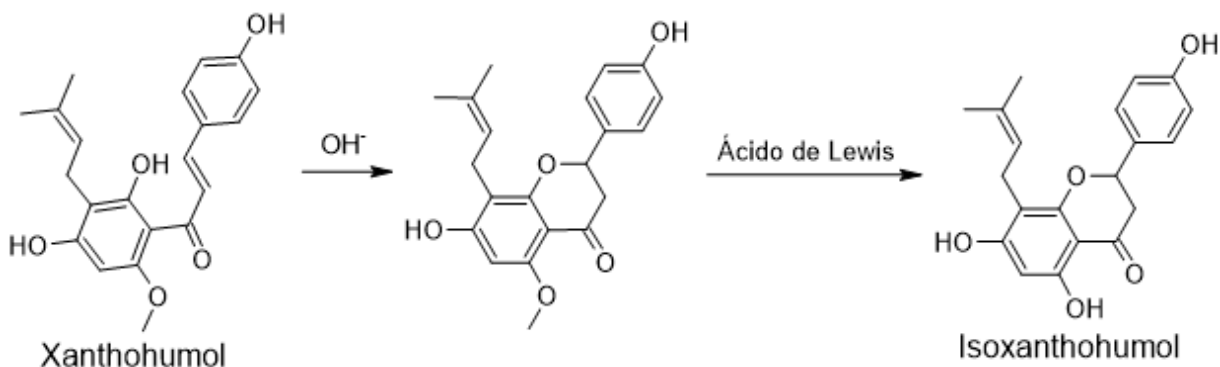
Fonte: Criado com BioRender.com e própria autoria

Tabela 2 - Bioatividade e efeitos farmacológicos do xanthohumol e outros compostos do lúpulo relatados na literatura.

Bioatividade e efeitos farmacológicos de XN	Ação relatada na literatura	Referência
Prevenção de doenças cardíacas	Elimina espécies que reagem com o oxigênio devido à elevada atividade antioxidante e antienvelhecimento	(LIU <i>et al.</i> , 2019)
Prevenção de infecções do sistema respiratório	Inibe e ativa o potencial de fibroblastos cardíacos induzido por citocinas pró-fibróticas mediadas por sinais de mecanismos subjacentes	(JIANG <i>et al.</i> , 2020)
Melhora do trato intestinal	Suprime a replicação do vírus sincicial respiratório e a liberação de citocinas e quimiocinas (pró-inflamatórias IL-8 e RANTES, respectivamente) das células epiteliais nasais humanas, efeitos antimicrobianos que, por sua vez, promovem melhorias no trato intestinal	(FUCHIMOTO <i>et al.</i> , 2013; RÓJ <i>et al.</i> , 2015)
Modulação de proteínas e enzimas ligadas ao tumor	Modula proteínas e enzimas que participam do mecanismo tumoral, promovendo a desintoxicação carcinogênica e inibição da ciclooxigenase e fornecendo sinais de estrogênio inibidos pela brefeldina	(STEVENS; PAGE, 2004; YOSHIMARU <i>et al.</i> , 2014)
Resistência ao câncer de mama	Confere resistência à doxorrubicina causada por células de câncer de mama infectadas	(LIU <i>et al.</i> , 2016)
Anticancerígeno e anti-inflamatório	Fornecer fortes atividades anti-inflamatórias e anticancerígenas que podem inibir a ativação do receptor Toll-like 4 e desempenhar um papel importante no sistema imunológico	(CHEN; KAO; LIU, 2018)
Proteção hepática	Tem um efeito toxicológico em doenças do fígado humano	(ZENGER <i>et al.</i> , 2015)
Antiobesidade	Controla a obesidade induzida por fígado gorduroso e dieta, suprimindo a ativação da proteína de ligação do elemento regulador de esteroide	(MIYATA <i>et al.</i> , 2015)
Prevenção da doença de Alzheimer	Tem caráter inibitório e neuroprotetor para a agregação β -amilóide de XN e seus derivados na doença de Alzheimer	(WANG <i>et al.</i> , 2019)
Bioatividade e efeitos farmacológicos de Ácidos amargos, 2-metil-3-buten-2-ol, alguns terpenos de óleo essencial de lúpulo (linalol e mircenol)		
Efeitos sedativos e neurofarmacológicos	Interage na modulação da resposta do receptor GABA _A . Promove interação de alguns compostos do lúpulo com os receptores de melatonina e serotonina e com receptores glutamatérgicos ionotrópicos	(BOCQUET <i>et al.</i> , 2019)
Bioatividade e efeitos farmacológicos de 8-prenilnaringenina e IXN		
Atividades estrogênicas e relacionadas à osteoporose	Forte afinidade de ligação para os receptores de estrogênio (em particular ER α). Exerce uma inibição da atividade da aromatase, enzima envolvida na conversão de andrógenos em estrógenos. A atividade anti-inflamatória desses compostos também pode redundar na prevenção da osteoporose	(BOCQUET <i>et al.</i> , 2019)

É importante destacar que, durante o processo de produção da cerveja, a maior fração do XN presente no lúpulo sofre um processo reação de isomerização térmica das chalconas em flavonas, resultando em isoxanthohumol (IXN) (Figura 6) (DURELLO; SILVA; BOGUSZ JR., 2019).

Figura 6 - Reação de isomerização térmica do xanthohumol em isoxanthohumol.



Fonte: Adaptado de Durello, Silva e Bogusz Jr (2019).

Embora o processo cervejeiro não tenha interesse direto no XN, ele e seus isômeros (IXN e compostos relacionados) têm despertado contínuo interesse devido às propriedades farmacológicas. A concentração desse composto na cerveja é geralmente insuficiente para ter efeitos farmacológicos e de saúde. Por outro lado, o flavonoide prenilado IXN também apresenta atividades biológicas na cerveja, sendo um precursor fitogênico na dieta e tendo propriedades anti-inflamatórias (GIL-RAMÍREZ *et al.*, 2012). Ainda, grande parte desses compostos se perdem no *trub* (COSTA *et al.*, 2020), o que evidencia a importância desta pesquisa.

Devido a importância do XN e do IXN, um artigo de revisão científica com foco em apresentar as características e benefícios para o consumo humano, e discutir as principais técnicas de extração, suas vantagens e limitações, para prospectar estratégias de recuperação desse composto de alto valor agregado a partir de resíduos sólidos cervejeiros foi elaborado e redigido, intitulado “*Xanthohumol properties and strategies for extraction from hops and brewery residues: A review*”. Esse artigo foi submetido e publicado online na revista *Food Chemistry* em outubro de 2022 (VICENTE DE ANDRADE SILVA *et al.*, 2022).

2.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

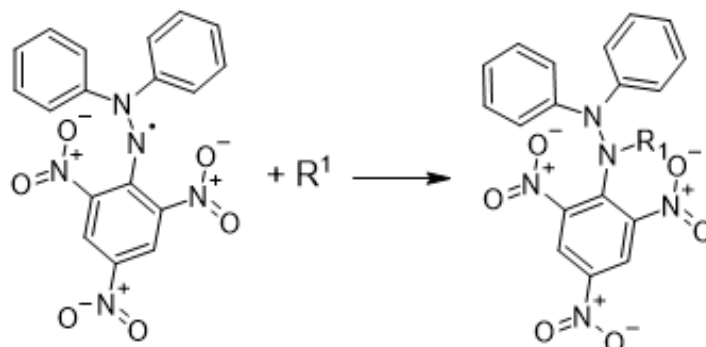
A atividade antioxidante é definida como a capacidade de proteção que alguns compostos bioativos oferecem contra o efeito nocivo dos radicais livres, quando presentes em concentrações menores que o substrato (COSTA *et al.*, 2020; MAIA, 2020).

Os antioxidantes podem atuar de duas maneiras distintas: primária ou secundária. Na primária, os antioxidantes podem interromper as cadeias reativas, caracterizadas pela doação de elétrons ou hidrogênio e/ou reagindo com os radicais livres. Na secundária, o antioxidante tem a sua atuação no oxigênio da molécula, podendo realizar a captura do oxigênio, a decomposição de hidroperóxidos e/ou a desativação do oxigênio singlete, conferindo então proteção contra efeitos nocivos (ALMEIDA *et al.*, 2020; GERHÄUSER, 2009; LEGETTE *et al.*, 2014).

Os antioxidantes sintéticos, como BHT (2,6-diterc-butil-p-creso) e BHA (2,3-terc-butil-4-hidroxianisol), são amplamente utilizados no setor industrial, sendo capazes de proteger óleos e gorduras dos produtos, impedindo a alteração na forma, sabor ou odor. O maior problema no consumo destes aditivos sintéticos é a sua relação com aumento na incidência de câncer, induzido pela modificação do DNA (MAIA, 2020). Com a atual tendência de reduzir ou evitar os antioxidantes sintéticos, diversos estudos têm sido realizados visando a utilização de resíduos agroindustriais com aplicações diretas ou recuperados que possuem compostos bioativos naturais como matéria-prima, obtendo não apenas benefício à saúde humana pelo uso de um composto antioxidante natural, mas também pela contribuição de uma economia circular promovida no setor (MAIA, 2020).

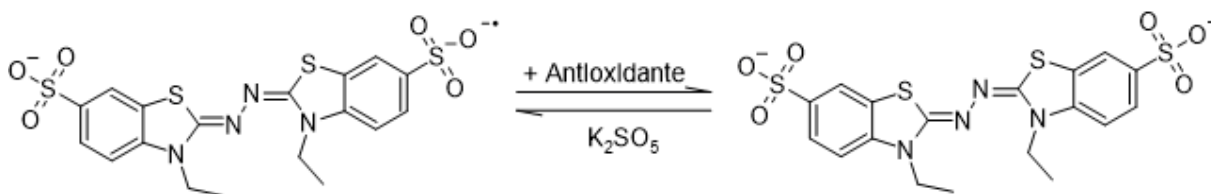
Dentre os diversos métodos espectrofotométricos *in vitro* para avaliação da atividade antioxidante total, os mais utilizados são por meio da redução de radical DPPH (2,2-difenil-1-picrylhidrazil) (Figura 7) e ABTS (2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolína-6-ácido sulfônico)) (Figura 8) (RUFINO, M. DO S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. DE; MORAIS, S. M. DE; SAMPAIO, C. DE G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, 2007a, 2007b). Estes métodos têm como princípio de ação a transferência de elétrons e são quantificados pelo consumo de radicais livres uma vez que um agente oxidante é adicionado à solução, e os agentes antioxidantes (DPPH e ABTS) são reduzidos, sofrendo mudanças em sua coloração (AREND, 2016).

Figura 7 - Estabilização do radical livre DPPH por dissolução do reagente em meio orgânico.



Fonte: Adaptado de Rufino et al. (2007b)

Figura 8 - Estabilização do cátion radical ABTS⁺ reagindo com um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.



Fonte: Adaptado de Rufino et al. (2007a)

Costa et al (2020), ao compararem os métodos ABTS e DPPH na determinação de compostos fenólicos do *trib*, verificaram valores inferiores de CE₅₀ (concentração eficaz) em extrato etanólico bruto (EEB), frações hexânicas (Hex), acetato de etila (AcOEt), butanol (BuOH) e extrato aquoso para o segundo caso. A pesquisa também indica que não houve diferença estatística entre as concentrações de CFT do extrato alcoólico bruto e padrão (ácido gálico) para as metodologias utilizadas. Porém quando comparadas as frações hexânicas e o extrato aquoso, foi observado que não houve proporcionalidade dos resultados (indicado pela correlação de Spearman) para ambos os métodos, havendo a necessidade de utilizar outros métodos para a determinação da atividade antioxidante (COSTA *et al.*, 2020). Os resultados indicaram que os compostos antioxidantes presentes no *trib* podem não pertencer a mesma classe, confirmando que a maioria desses compostos são moderadamente a altamente polares. (COSTA *et al.*, 2020; RUFINO, M. DO S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. DE; MORAIS, S. M. DE; SAMPAIO, C. DE G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, 2007a).

As pesquisas relacionadas ao *trub* quente ou outros subprodutos contendo lúpulo em cervejaria que apontam o seu valor biológico ainda são escassas, fazendo-se necessário uma investigação do perfil destes subprodutos. Ainda, é importante caracterizá-los adequadamente, conhecer o potencial de aplicações e das contribuições que podem oferecer, tendo em vista o elevado volume deste resíduo gerado pelo setor cervejeiro.

2.4 METODOLOGIAS POTENCIAIS PARA EXTRAÇÃO DE BIOATIVOS

A recuperação de compostos fenólicos a partir de subprodutos da cervejaria requer várias etapas (operações unitárias), começando por uma extração sólido-líquido, seguida por métodos de separação/purificação (geralmente cromatografia, precipitação e cristalização) (STEVENS; PAGE, 2004; TRONINA *et al.*, 2017). Inerente ao processo está o uso de solventes orgânicos voláteis (clorofórmio, cloreto de metileno, metanol, éter dietil, acetona e hexano), que são tóxicos e não contribuem para um processo sustentável (CHEN *et al.*, 2012; GRUDNIEWSKA; POPŁOŃSKI, 2020; KOUTSOUKOS *et al.*, 2019). As questões toxicológicas e ambientais causadas pelo uso de alguns solventes orgânicos têm sido o precursor da busca por alternativas mais verdes (RÓJ *et al.*, 2015; SANZ *et al.*, 2019).

Para isso, métodos emergentes de extração como o ultrassom, micro-ondas e água quente pressurizada estão sendo utilizados para obtenção de compostos valiosos de subprodutos da cervejaria. Estes são estudados visando economizar tempo e energia, além de reduzir a quantidade de solvente utilizado (KHAW *et al.*, 2017; ROCHA *et al.*, 2018; SETTE *et al.*, 2020).

A Tabela 3 retrata os principais estudos sobre a recuperação de moléculas ativas de lúpulo e subprodutos cervejeiros em diferentes fontes. Detalhes da técnica de extração assistida por ultrassom, a ser utilizada nesta pesquisa, são apresentados a seguir.

Tabela 3 - Visão geral dos métodos de recuperação de moléculas ativas de lúpulo e subprodutos cervejeiros sendo investigados.

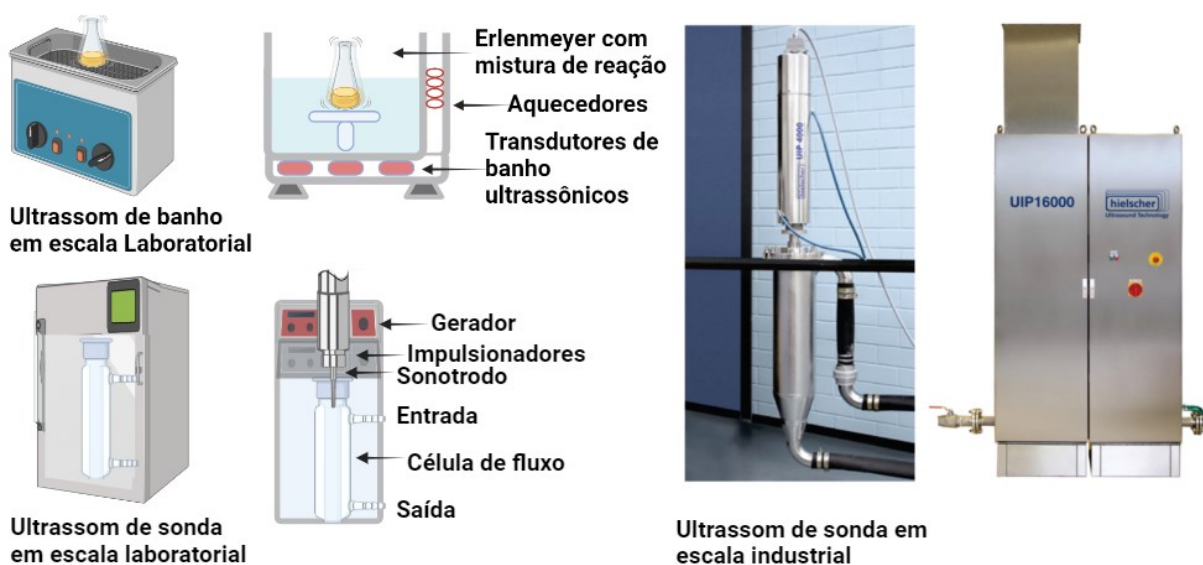
Amostra	Procedimento de extração	Condições do processo	Produto recuperado e concentrações	Método analítico	Referência
Cone de lúpulo seco	Etanol, água e 50% etanol + ultrassonicação	40 kHz em 25 °C por 1 min	XN: 0.5 - 7 mg g ⁻¹	HPLC-DAD	(CARBONE <i>et al.</i> , 2020)
	Etanol, água e 50% etanol + micro-ondas	40 kHz em 25 °C por 1 min	0.3 - 19 mg g ⁻¹		
Lúpulo gasto	Extração com solventes eutéticos profundos (DES)	500 ppm em 60 °C por 60 min	XN: 1 - 2.3 mg g ⁻¹	HPLC	(GRUDNIEWSKA; POPŁOŃSKI, 2020)
Levedura gasta	95% etanol + ultrassonicação	10 min	XN e IXN: 82 - 99%	HPLC-DAD HPLC-MS/MS	(HSU; KAO, 2019)
Lúpulo, cervejas de suplementos alimentares	Metanol + banho ultrassônico	30 min em 25 °C	XN: 0.1 - 12.7 mg g ⁻¹ 0.03 - 0.07 mg L ⁻¹	HPLC-DAD SPLE-HPLC-DAD	(LOUREIRO <i>et al.</i> , 2019)
Lúpulo	Etanol sob refluxo	400 W em 48 °C por 30 min	XN: 93 %	HPLC-HSCCC	(CHEN <i>et al.</i> , 2012)
Pellets de lúpulo	Extração com água e etanol Pressurização	10.7 MPa em 50 - 200 °C por 30 min	XN: 0.01 - 1.90 mg g ⁻¹	HPLC-DAD HPLC-MS/MS	(GIL-RAMÍREZ <i>et al.</i> , 2012)
			IXN: 2.3 - 5.1 mg g ⁻¹		
Extrato e capsulas de lúpulo	Metanol + banho ultrassônico	30 min	XN e IXN: 96 - 100%	HPLC-DAD	(DHOOGHE <i>et al.</i> , 2010)
Lúpulo, lúpulo gasto, <i>trub</i> quente e cervejas	Metanol-ácido fórmico (99:1, v/v) + ultrassonicação	10 min	XN: 0.06 - 3.5 mg g ⁻¹	HPLC	(MAGALHÃES <i>et al.</i> , 2008)
			IXN: 1.5 - 4.6 mg L ⁻¹		
Lúpulo	Metanol-ácido fórmico (99:1, v/v) + ultrassonicação	30 min	XN: 3.7 mg 100 g ⁻¹	HPLC-DAD HPLC-ESI-MS/MS	(MAGALHÃES <i>et al.</i> , 2007)

Lúpulo gasto	Metanol + ultrassonicação	Amplitude-80% em 23 °C por 5 – 60 min	Isohumulonas Humulonas Lupulonas 78 – 86%	HPLC	(ANIOL; ZOŁNIERCZYK, 2008)
Lúpulo	Etanol + Micro-ondas	400 W em 75 °C por 1 min	Polifenóis 82%	UV-vis	(CARBONE <i>et al.</i> , 2020)

2.5 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM

A extração assistida por ultrassom (EAU) tem se mostrado um método rápido para extrair compostos bioativos de matrizes vegetais. Possui baixo custo, alto desempenho de extração, alta reprodutibilidade e baixo gasto energético, mantendo a qualidade de extração mesmo em escala industrial (ALMEIDA *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2008). O mecanismo de sonicação, atribuído às ondas acústicas, promove a cavitação que colapsa a matriz vegetal aumentando a taxa de recuperação de compostos fenólicos pelo solvente (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011). Normalmente, o dispositivo extrator usado para sonicação é um dispositivo ultrassônico, banho ou sonda, em escala laboratorial, ou sonda em escala industrial, como mostrado na Figura 9.

Figura 9 - Representação e fotografia de equipamento de extração assistida por ultrassom (EAU).



Fonte: Criado com BioRender.com e adaptado de (AMEER; SHAHBAZ; KWON, 2017; CHEMAT *et al.*, 2017)

A eficiência da EAU pode ser influenciada pela temperatura, tempo, polaridade do solvente, potência, frequência, entre outros, com efeitos independentes ou interativos (ALMEIDA *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2008). Carbone *et al.* (2020) ao estudar a extração de biocompostos de cones de lúpulo, mostraram que há uma dependência entre as condições de operação ultrassônica (por 30 min a 25 °C e 40 kHz) e o solvente utilizado, uma vez que esta técnica aumenta a eficiência de extração, pela qual diferentes perfis bioativos podem ser obtidos

e, portanto, adaptado para fins específicos. Teores de polifenóis totais iguais a 8, 12 e 20 mg GAE g⁻¹ foram obtidos para água, água e etanol (50:50) e apenas etanol, respectivamente. No entanto, a combinação de 80% de metanol aquoso com maceração dinâmica (30 min a 25 °C) operando a 300 rpm e EAU durando 30 min, 25 °C e 40 kHz, apresentaram um teor de polifenóis total de 29 mg GAE g⁻¹, valor superior ao encontrado quando utilizando o solvente etanol:água. Os autores relatam que a escolha do solvente utilizado na extração de compostos a partir de matrizes vegetais é restrita, com metanol e etanol sendo os principais solventes utilizados na extração de compostos bioativos, por terem um ponto de ebulição não superior a 70 – 75 °C, uma vez que acima dessas temperaturas há degradação ou interação covalente com outros constituintes da matriz polifenólica. Além disso, há uma baixa polaridade dos polifenóis que facilita a solubilidade por solventes como metanol e etanol. No entanto, o metanol não é permitido em aplicações alimentares, enquanto o etanol é um solvente adequado para aplicações de grau alimentar (AL-DHABI; PONMURUGAN; MARAN JEGANATHAN, 2017; CARBONE *et al.*, 2020).

Chen *et al.* (2012) realizaram uma extração em ultrassom (400 W, 40 °C, 30 min) utilizando pó de lúpulo seco e um solvente hidroalcolólico e após o procedimento de isolamento com HSCCC (*high-speed countercurrent chromatography*), o rendimento de extração de XN foi de 93%. Magalhães *et al.* (2008) caracterizaram os compostos bioativos de cervejas (claras e escuras) fortificados com padrões XN em diferentes porções, posteriormente as amostras foram submetidas à extração ultrassônica (condições operacionais não mostradas) utilizando 70% de metanol aquoso durante 15 min, observando valores de recuperação desta chalcona de 95 a 97%.

Os pesquisadores têm relatado que a extração assistida por ultrassom tem várias vantagens em relação à extração convencional de solventes, incluindo redução do consumo de solventes e tempo de extração, permitindo maior exposição do composto de interesse, além de maior recuperação.

2.6 PROCESSO DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS

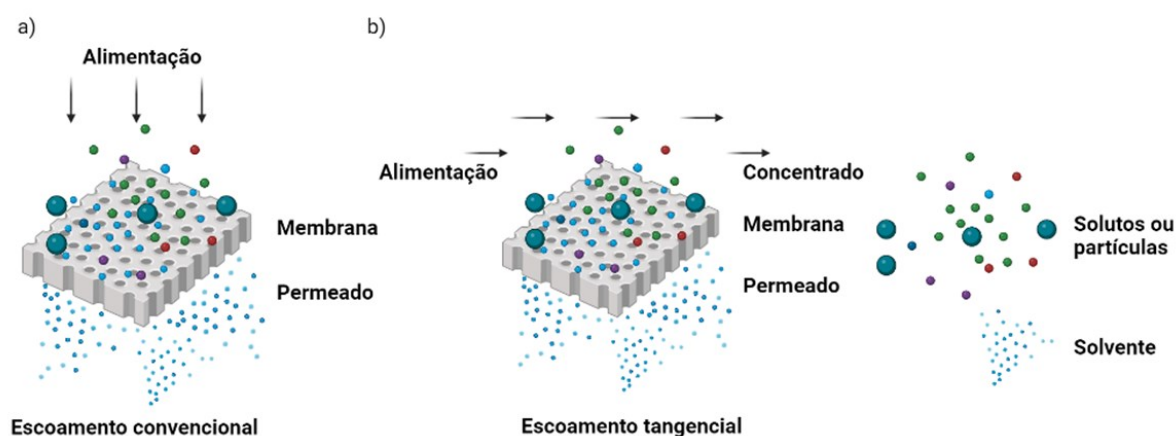
Os processos de separação por membranas (PSM) são cada vez mais utilizados para recuperação de compostos proteicos, pectinas, compostos fenólicos e compostos antioxidantes de resíduos agroindustriais (OCHANDO-PULIDO *et al.*, 2017; RODRIGUES *et al.*, 2021).

O princípio dos PSM está baseado na passagem de uma corrente de alimentação sobre uma barreira seletiva, separando-a em duas fases: a corrente que atravessa a membrana,

conhecida como permeado, e a que possui solutos retidos pela barreira, denominado retido ou concentrado (AREND, 2016; KNAPP, 2020).

Os PSM podem ser caracterizados por dois tipos de filtração: convencional (*dead-end filtration*) e tangencial (*crossflow filtration*), sendo diferenciados pela direção em que a corrente de alimentação escoa (Figura 10a e b). Na filtração convencional, o fluido escoa perpendicularmente à membrana, proporcionando o acúmulo de material particulado na superfície, sendo necessário interromper o processo para limpeza com maior frequência (AREND, 2016). Na filtração tangencial, o fluido escoa em altas velocidade de maneira paralela à membrana, favorecendo que ocorra o arraste de partículas que tendem a se depositar na superfície (AREND, 2016; HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006).

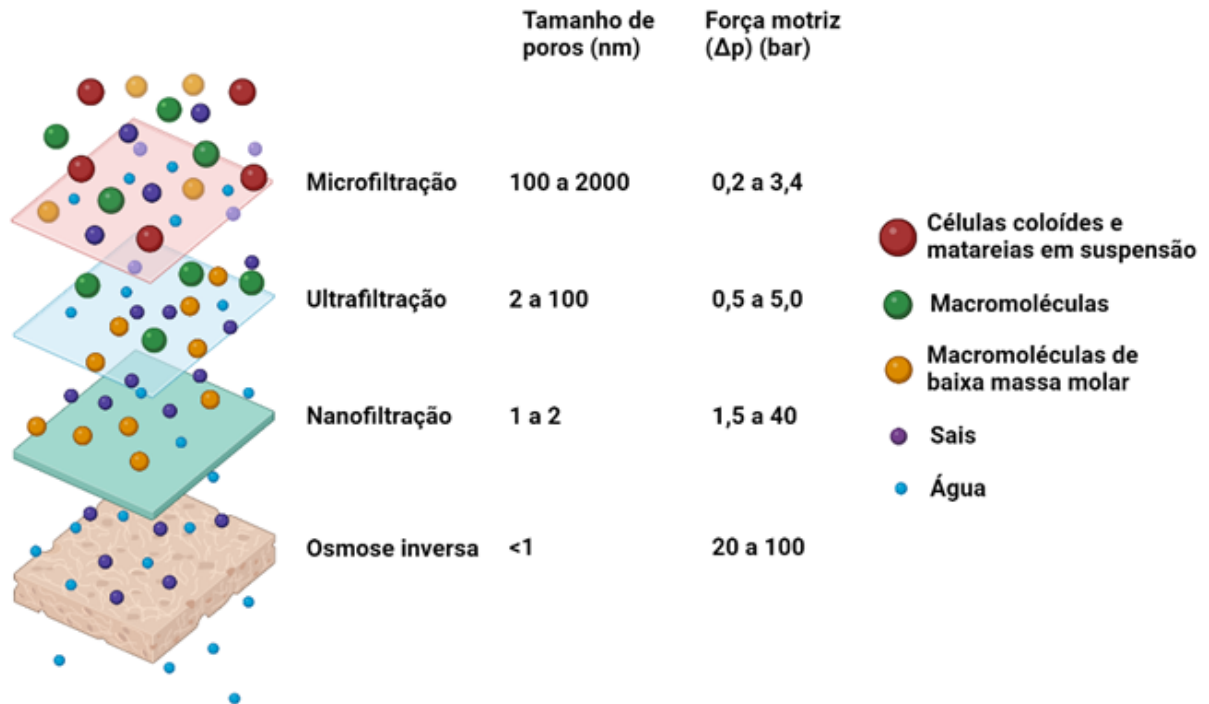
Figura 10 - Filtração por membrana a) Filtração convencional (*dead-end filtration*) e b) filtração tangencial (*crossflow Filtration*).



Fonte: Criado com BioRender.com e adaptado de adaptado de AREND (2016). OBS. Desenho representativo, pois a membrana não necessariamente possui poros.

Os processos que envolvem membranas se destacam por apresentar vantagens como baixo consumo de energia e menor custo operacional, utilizam temperaturas amenas, possuem alta eficiência e seletividade (CIMINI; MORESI, 2020). As principais técnicas utilizadas no tratamento de fluidos líquidos, microfiltração (MF), ultrafiltração (UF), nanofiltração (NF) e osmose inversa (OI), têm como força motriz a diferença de pressão hidráulica, utilizada de acordo com as características das membranas e o tamanho dos poros (Figura 11) (CIMINI; MORESI, 2020; HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006; OCHANDO-PULIDO *et al.*, 2017).

Figura 11 - Processos de separação por membranas aplicados no tratamento de fluidos líquidos, com indicativo de uso e pressão aplicada.



Fonte: Criado com BioRender.com e adaptado de Adaptado de Arend (2016) e Habert, Borges e Nobrega (2006).

OBS. Tamanho de poros varia dependendo da literatura. Membranas de NF e OI são geralmente consideradas densas.

Membranas de osmose inversa e de nanofiltração têm sido utilizadas para a separação de compostos bioativos de diversas fontes. Alguns exemplos incluem compostos fenólicos, flavonoides, antocianinas e óleos essenciais (ARENDA, 2016; MUÑOZ *et al.*, 2021; TAPIA-QUIRÓS *et al.*, 2022b). Arend (2016) e Cimini & Moresi (2014, 2015) afirmam em seus estudos que sucos e bebidas fermentadas de frutas contém água, etanol e pequenas frações de ácido acético, ácido lático e compostos de baixo peso molecular, permitindo o uso membranas de NF e OI para a separação de álcool em baixa temperatura, sem a alterar as propriedades sensoriais da amostra inicial. Entretanto, moléculas maiores como açúcares, aromas e compostos fenólicos, ficam retidos na membrana gerando um aumento na pressão osmótica e polarização de concentração em sua superfície (LI *et al.*, 2020; OCHANDO-PULIDO *et al.*, 2017).

O uso de processos de separação baseados em membranas na indústria cervejeira tem sido cada vez mais frequente em diversas operações, como na clarificação, esterilização a frio

na remoção de etanol, recuperação de leveduras, entre outros usos, como bem abordado no artigo de revisão de Ambrosi et al. (2014). Em relação à nanofiltração, processo considerado nesta dissertação, tem sido utilizada no controle do teor alcoólico, na remoção parcial de açúcares, na redução da acidez volátil e acidificação (CONIDI; CASTRO-MUÑOZ; CASSANO, 2020). Recentemente, Sánchez et al. (2021) investigaram um projeto conceitual de processo híbrido envolvendo desalcoolização de cerveja *lager* por nanofiltração, seguida de aprimoramento do permeado por destilação, cujo desempenho econômico e ambiental provaram ser promissores.

Tendo em vista o potencial de recuperação de compostos bioativos a partir de resíduos da agroindústria, mesmo com todas as alternativas de processamento e obtenção de subprodutos de alto valor agregado, existem poucos relatos na literatura sobre métodos de extração, concentração ou purificação de compostos bioativos oriundos do *trub* quente, sendo que este resíduo ainda é subutilizado ou descartado. Existe um alto valor biológico inexplorado para encontrar novas aplicações no *trub*, podendo reduzir a quantidade de rejeitos, e conseqüentemente, reduzir o impacto ambiental. Caracterizá-lo em compostos de alto valor agregado dependerá de tecnologias de processamento eficientes, economicamente viáveis e sobretudo sustentáveis.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

O *Trub* quente foi gentilmente cedido pela cervejaria Kairós, localizada em Florianópolis, SC. O *trub* utilizado foi proveniente da fabricação de cerveja tipo *West Coast IPA*, conhecida por ter alta carga de lúpulo na sua receita. Após a coleta, o material foi imediatamente congelado a temperatura de $-17\text{ }^{\circ}\text{C}$ e armazenado em sacos para posterior análise. Para sua utilização, o resíduo foi descongelado lentamente em temperatura ambiente e submetido à centrifugação a 3500 rpm por 20 minutos para separar a fração sólida da fração líquida. Para os experimentos de caracterização dos compostos bioativos utilizou-se apenas a fração sólida do resíduo. Como industrialmente a fração líquida (mosto) pode retornar ao processo cervejeiro e ser totalmente reaproveitada, não foi utilizada para fins analíticos.

Além de água deionizada, foram utilizados diversos reagentes, listados na Tabela 4.

Tabela 4 - Principais reagentes químicos utilizados nos experimentos.

Nome	Forma Molecular	Marca	Grau de Pureza
2,2-azino Bis(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sufônico)	$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_6\text{S}_4$	SIGMA	98%
2,2-Difenil-1-Picrilhidrazil	$\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$	SIGMA	85%
Acetona	$\text{CH}_3(\text{CO})\text{CH}_3$	NEON	P.A
Ácido bórico	H_3BO_3	VETEC	P.A
Ácido clorídrico	HCl	NEON	37% P.A
Ácido gálico Monoidratado	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5\cdot\text{H}_2\text{O}$	VETEC	P.A
Ácido sulfúrico	H_2SO_4	QUIMIDROL	98%
Álcool etílico	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	NEON	99,8% P.A
Álcool metílico	CH_3OH	NEON	P.A
Biftalado de potássio	$\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$	VETEC	P.A
Carbonato de sódio anidro	Na_2CO_3	NEON	P.A
Fenoltaleina	$\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$	NUCLEAR	P.A
Folin-Ciocalteu	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$	DINÂMICA	99,5%
Hidróxido de sódio	NaOH	NEON	P.A
Verde de bromocresol	$\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Br}_4\text{O}_5\text{S}$	VETEC	P.A
Vermelho de metila	$\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$	VETEC	P.A

3.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO *TRUB* QUENTE

3.2.1 Umidade

A umidade da fração sólida do *trub* quente foi determinado através do método de secagem direta em estufa (SP LABOR – modelo SP-400) a 105 °C até peso constante, conforme a metodologia de IAL (2008). Os resultados são expressos em base úmida (b.u.).

3.2.2 Resíduo mineral fixo

Determinado a partir da incineração direta em forno mufla (QUIMIS, série Q318M) à 550 °C, após a carbonização da matéria, durante 24 h, conforme método descrito na IAL (2008).

3.2.3 Potencial Hidrogeniônico (pH)

Os valores de pH das amostras de *trub* quente foram determinados em medidor de pH (GEHAKA, modelo PG2000), de acordo com método descrito na *American Public Health Association* - APHA (2005).

3.2.4 Condutividade elétrica

A condutividade elétrica das amostras do *trub* quente foi determinada com condutivímetro (GEHAKA, modelo CG2000), conforme metodologia descrita do *International Seed Testing Association* – ISTA (2008).

3.2.5 Acidez total

As amostras do *trub* tiveram sua acidez total titulável em solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹, utilizando fenolftaleína com indicador, segundo metodologia descrito na APHA (2005).

3.2.6 Teor de nitrogênio total

Foi utilizado o método de Kjeldahl como referência para quantificar o teor de nitrogênio total no *trub*, conforme o método oficial de análise pela *Association of Official Analytical Chemists International* (RYBAK-CHMIELEWSKA, 2003). Utilizou-se um sistema composto de bloco de digestão (QUIMIS, modelo Q327828M) e destilador de nitrogênio (QUIMIS, modelo C32881), e fator de conversão 5,6 (MARIOTTI; TOMÉ; MIRAND, 2008).

3.2.7 Teor de lipídios

O teor de lipídios foi determinado a partir do método em Soxhlet conforme metodologia de IAL (2008).

3.2.8 Teor de fibra bruta

Foi determinado em extração contínua em aparelho de Soxhlet, utilizando éter como solvente, conforme IAL (2008).

3.2.9 Teor de carboidratos

Foi determinado pelo cálculo da diferença, e subtraiu-se de 100 a soma dos teores de umidade, resíduo mineral fixo, nitrogênio total, lipídios e fibra bruta.

3.3 COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

3.3.1 Teor de compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais do *trub* presente na fração sólida, foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu conforme Singleton e Rossi (1965), o qual consiste na reação de 10 μL de amostra, com 1,5 mL de carbonato de sódio 20%, 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu e o volume completado para 10 mL com água destilada. A solução foi deixada em repouso durante 2 horas, ao abrigo da luz, e as absorbâncias lidas em comprimento de onda de 765 nm em espectrofotômetro (QUIMIS UV-Vis mi, Modelo Q898U2M5). Utilizou-se água destilada como branco. O mesmo procedimento foi realizado para a construção de curva padrão de ácido gálico com concentrações variando de 0 a 500 mg mL^{-1} . Os resultados foram expressos em mg GAE g^{-1} de amostra seca considerando a diluição da amostra.

3.3.2 Teor de flavonoides totais

A determinação de flavonoides foi realizada pelo método descrito por Francis (1982), com modificações. Utilizou-se cerca de 0,3 g da fração sólida do *trub*, adicionado 10 mL da solução etanol-HCl (1,5 M), e transferido para tubos Falcon de 15 mL os quais foram armazenados durante 24 horas em ambiente escuro sob refrigeração. Em seguida, a solução foi sedimentada em centrífuga (SOLAB, Modelo SL-700) por 10 minutos à 5000 rpm. Logo após recolhido o sobrenadante, procedeu-se com leitura da absorbância em espectrofotômetro em

comprimento de onda de 374 nm. Utilizou-se etanol-HCl (1,5 M) como branco. Os resultados foram expressos em $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ considerando a diluição da amostra.

3.3.3 Atividade antioxidante DPPH

A capacidade antioxidante do *trub* foi determinada pelo método de inibição do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) de acordo com Rufino et al. (2007b), com modificações, pela reação da amostra com a solução metanólica do DPPH. Diluiu-se 2,4 mg do radical DPPH• em metanol ($0,06 \text{ mmol L}^{-1}$), em seguida foi realizada a reação de 0,1 mL da amostra com 3,9 mL da solução de DPPH. A leitura foi realizada imediatamente após a mistura e após 30 min de reação. Para calcular a atividade antioxidante foi preparada uma curva analítica de ácido gálico (de 0 a 200 mg L^{-1}) utilizando o mesmo método e então expressada a atividade antioxidante das amostras em equivalente a ácido gálico (mg GAE mL^{-1}). As absorvâncias foram medidas em espectrofotômetro (QUIMIS UV-Vis mi, Modelo Q898U2M5) à 515 nm e metanol foi utilizado como branco.

3.3.4 Atividade Antioxidante ABTS

A capacidade antioxidante do *trub* foi determinada através da inibição do radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolína-6-ácido sulfônico)) conforme o método adaptado de Rufino et al. (2007a). Em um tubo de ensaio, foram adicionados 5 mL de solução aquosa de $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (7 mmol L^{-1}) com 88 μL de persulfato de potássio (140 mmol L^{-1}), previamente preparados. A solução permaneceu em repouso ao abrigo da luz, à temperatura ambiente, por 16 h antes da análise. Em seguida, diluiu-se 1 mL desta mistura em etanol até obter uma absorvância de $0,70 \text{ nm} \pm 0,05 \text{ nm}$ a 734 nm. A reação foi realizada utilizando 30 μL de amostra e 3 mL de $\text{ABTS}^{\bullet+}$ seguido de homogeneização em agitador (NORTE CIENTÍFICA, modelo NA3600). A mistura foi deixada reagir por 6 min e então foi realizada a leitura em espectrofotômetro à 734 nm. Para calcular a atividade antioxidante foi preparada uma curva analítica de ácido gálico (de 0 a 250 mg L^{-1}) utilizando o mesmo método e então expressada a atividade antioxidante das amostras em equivalente a ácido gálico (mg GAE mL^{-1}).

3.4 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM (EAU)

A extração de compostos fenólicos do *trub* quente foi investigada a partir de um planejamento fatorial Box-Behnken (1960) tendo como variáveis de entrada: razão sólido/líquido (1:20 – 3:20 m/v), concentração de solvente (10 – 90 %) e temperatura

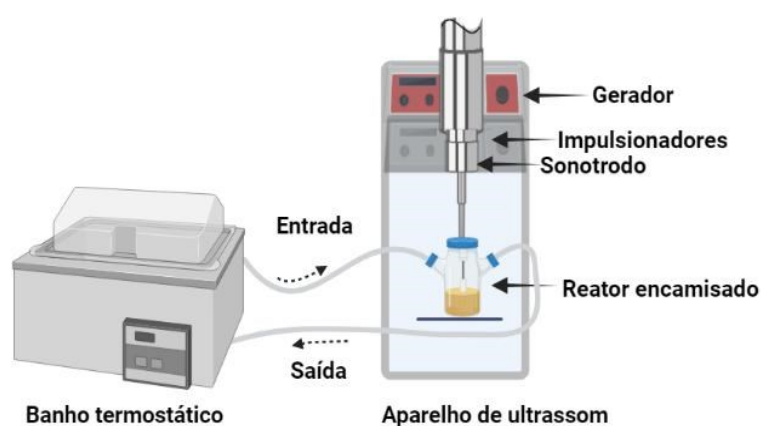
(30 – 60 °C). Foram necessários 12 ensaios (Tabela 5) mais três repetições no ponto central para determinar o erro do método, tendo como variável resposta o teor de compostos fenólicos totais, determinado de acordo com o descrito na seção 3.3.1.

Tabela 5 - Matriz do planejamento experimental Box-Behnken aplicado para a extração assistida por ultrassom (EAU).

Ensaio	Variáveis de entrada		
	Etanol % vol.	Razão sólido/líquido G mL ⁻¹	Temperatura °C
01	10	1/20	45
02	10	3/20	45
03	90	1/20	45
04	90	3/20	45
05	50	1/20	30
06	50	3/20	30
07	50	1/20	60
08	50	3/20	60
09	10	2/20	30
10	90	2/20	30
11	10	2/20	60
12	90	2/20	60
13	50	2/20	45
14	50	2/20	45
15	50	2/20	45

Foram utilizados solventes hidroalcológicos, os quais são permitidos para finalidades alimentícias. A amostra e o solvente foram colocados em reator encamisado acoplado ao banho termostático (MICROQUIMICA, modelo MQBTC99-20) para controle da temperatura (Figura 12).

Figura 12 - Diagrama esquemático do equipamento de EAU.



Fonte: Própria autoria.

Este foi então submetido ao tratamento direto em sonificador de ponteira ultrassônica (ULTRONIQUE, modelo QR 550W), operado a 110 W e 20 kHz por 6 minutos. A potência e frequência foram ajustadas com base na literatura (RUIZ-RUIZ *et al.*, 2020), enquanto o tempo foi ajustado com base em análise prévia da cinética de extração (Figura A 1 - Apêndice), buscando evitar a degradação dos CTF. Após a extração, a solução foi separada do sólido através de filtração em papel-filtro (QUALY) com porosidade 14 μm e o filtrado recolhido em recipiente escuro. O extrato foi armazenado em freezer a $-17\text{ }^\circ\text{C}$ para posteriores análises.

As condições de extração dos CFT foram otimizadas utilizando a metodologia de superfície de resposta (RSM) bem como análise de regressão linear múltipla pela equação polinomial de ordem 2, Equação 1.

$$y = \beta_0 - \sum_{i=1}^3 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} x_{ii} + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} x_{ij} \quad \text{Equação 1}$$

Em que y é a resposta predita, os parâmetros β_0 , β_i , β_{ii} e β_{ij} são os coeficientes de regressão no intercepto, linear, quadrático e interação de termos, respectivamente e x_i , x_{ii} e x_{ij} são as variáveis independentes (RODRIGUES; IEMMA, 2014).

Como variáveis independentes utilizamos x_1 : razão sólido/líquido, x_2 : concentração de solvente e x_3 : temperatura. Foi verificada pelo teste ANOVA a significância estatística das variáveis estudadas na equação de regressão; as variáveis não-significativas foram excluídas e o modelo foi reajustado. A fim de encontrar a condição ótima dentro das faixas estudadas, foi aplicada a função *desirability*, proposta por Derringer e Suich (1980). A adequação do modelo foi avaliada por meio coeficiente de determinação (R^2) ajustado. Para a validação foi realizando novo experimento nas condições ótimas.

3.5 PROCESSO DE SEPARAÇÃO COM MEMBRANAS (PSM)

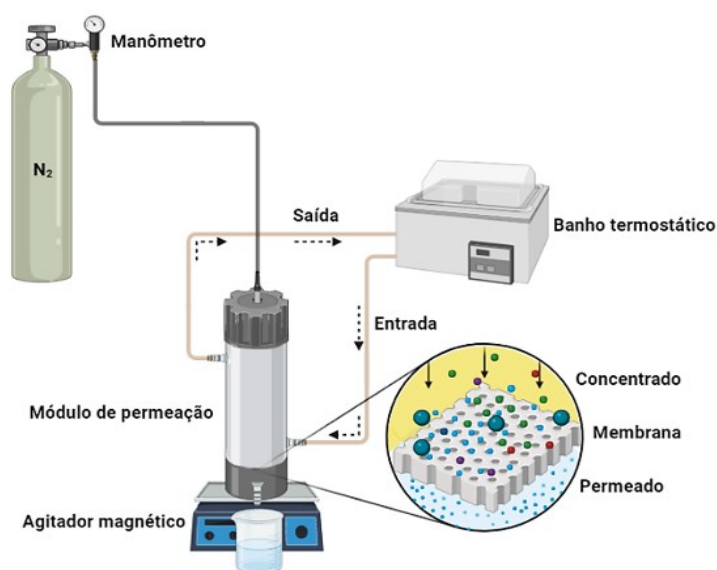
O extrato obtido na condição otimizada foi concentrado utilizando um sistema *dead-end* com membranas de nanofiltração (NF) e osmose inversa (OI) com área de filtração de $1,75 \times 10^{-3} \text{ m}^2$. Para escolher a membrana apropriada, três membranas de nanofiltração e uma de osmose inversa foram testadas preliminarmente: NFW (MWCO 300-500 Da, Synder®, C.A, EUA); NF090801 (MWCO 350 Da, SolSep BV, Alpedroom, NLD); NF030306 (MWCO 500-1000 Da, SolSep BV, Alpedroom, NLD); e TW30 (100 Da, DuPont FilmTEC™, Miami, EUA). As membranas de NF e OI foram embebidas em solvente (etanol 90%) durante 12 h

antes dos experimentos para remoção de conservantes, bem como condicionar e preencher todos os poros com o solvente utilizado (TAPIA-QUIRÓS *et al.*, 2022a).

Antes do processo de concentração, cada membrana foi previamente compactada com etanol 90% utilizando pressão de 18 bar, obtendo o fluxo de permeado a cada 10 min, até atingir um fluxo permeado com erro menor que 5%. Construiu-se um gráfico do fluxo permeado em função da variação do tempo (MUÑOZ *et al.*, 2021).

Para a concentração do extrato, o sistema de filtração foi mantido sob agitação constante em agitador magnético (IKA, modelo COLOR SQUID) a 300 rpm acoplado a um cilindro de N₂ com pressão constante de 18 bar e mantido temperatura de 25 °C, controlada com auxílio de banho termostático (TECNAL, modelo TE-2005). O sistema utilizado para a permeação está mostrado na Figura 13.

Figura 13 - Diagrama esquemático do equipamento de separação por membranas.



NOTA: Para melhor entendimento as proporções não correspondem com a realidade.

O permeado foi coletado a cada 10 min, sendo o processo conduzido até um tempo de permeação de 240 min. O fluxo permeado (J) foi calculado medindo-se a massa de fluido permeado através da membrana, com auxílio de uma balança (BEL ENGINEERING, modelo M4102), de acordo a Equação 2.

$$J = \frac{m_p}{A \cdot t}$$

Equação 2

Sendo m_p a massa de permeado obtido no intervalo t e A a área da membrana efetiva de permeação.

Além disso, o processo de NF e OI foi avaliado de acordo com o teor de compostos fenólicos totais presentes no concentrado e no permeado. A rejeição expressa a fração dos compostos presentes no volume da alimentação que permeia através da membrana durante o processo, conforme a Equação 3:

$$R(\%) = \left(1 - \frac{C_p}{C_c}\right) * 100 \quad \text{Equação 3}$$

Sendo C_p a concentração do composto no permeado e C_c a concentração do composto de interesse no concentrado.

As características das frações obtidas na etapa de separação por membranas foram avaliadas de forma semelhante ao apresentado na caracterização compostos bioativos e atividade antioxidante (Item 3.3).

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

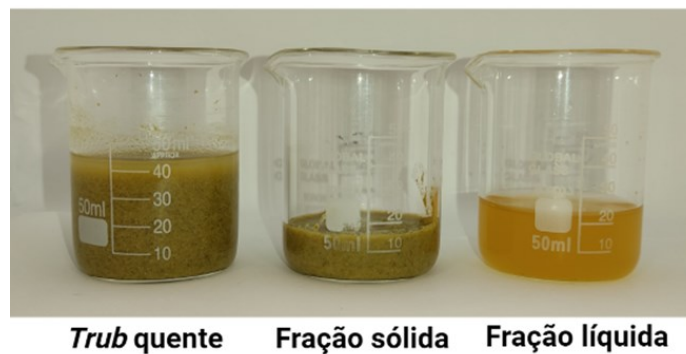
Tanto os testes envolvendo a extração e separação por membranas, como as análises foram realizadas em triplicata. Os resultados foram avaliados utilizando-se Statistica v. 13.5 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA). ANOVA e teste de Tukey foram utilizados para determinar diferenças significativas ($p < 0,05$). Os valores de R^2 foram calculados para verificar o ajuste dos modelos aos dados experimentais.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA

Após realizar a centrifugação da amostra de *trub* quente da cervejaria, verificou-se que a fração sólida representou cerca de 48% em volume, como pode-se verificar na Figura 14. Isso permite concluir que uma grande quantidade de mosto (52% do *trub* quente) é atualmente perdida na etapa de *whirlpool* da cervejaria, mas poderia retornar ao processo para minimizar geração de resíduos e aumentar a produção de cerveja. Uma vez que a fração sólida se mostrou promissora para a recuperação de compostos bioativos, foi utilizada na caracterização dos compostos bioativos e nas etapas de extração e separação por membranas.

Figura 14 - Resíduo *trub* quente de cervejeira, antes e após centrifugação.



Fonte: Própria autoria

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO *TRUB* QUENTE

4.2.1 Caracterização centesimal e físico-química

Na Tabela 6 está descrita a composição centesimal e a caracterização físico-química do *trub* quente proveniente da fabricação de cerveja tipo *West Coast IPA*. Existem poucos relatos na literatura sobre a determinação do teor de carboidratos em resíduos cervejeiros, e, devido à grande variabilidade de maltes e quantidades utilizadas na produção de cervejas, é plausível haver variabilidade no teor de carboidratos. Costa et al. (2020) e Mathias et al. (2015) determinaram o teor de carboidratos presentes no *trub* quente, obtendo valores entre 4 e 8%.

Tabela 6 - Composição centesimal e características físico-químicas do *trub* quente.

Fator	(g 100 g⁻¹)
Carboidratos	0,24 ± 0,19
Proteína total	11,44 ± 0,30
Lipídios	0,11 ± 0,01
Fibra totais	0,23 ± 0,19
Umidade (%)	87 ± 0,01
Cinzas	0,61 ± 0,01
Sólidos totais (%)	12,40 ± 0,12
Característica físico-química	
Acidez total (%)	21,85 ± 0,54
pH	5,36 ± 0,01
Condutividade elétrica (μS cm ⁻¹)	1325,33 ± 0,57

* Resultados expressos em termos de base úmida.

O resultado obtido no presente estudo ($0,24 \pm 0,19$ g 100 g⁻¹) indica que este subproduto apresenta baixo teor de carboidratos. Quando avaliado em relação ao teor de proteínas, observou-se um total de $11,44 \pm 0,30$ g 100 g⁻¹. Sabe-se que o *trub* quente é constituído principalmente de proteínas de alta massa molar, sendo que alguns estudos relatam valores entre 50 e 70% de proteína total (CIMINI; MORESI, 2021; MATHIAS, 2015). É importante comentar que as proteínas podem se unir com outras substâncias como polifenóis, por exemplo, resultando em partículas maiores as quais são retidas na camada filtrante da membrana, podendo resultar na incrustação da superfície (TAPIA-QUIRÓS *et al.*, 2022b). Complementarmente, o teor de lipídeos foi de $0,11 \pm 0,01$ g 100 g⁻¹, semelhante as pequenas frações lipídicas apresentado por Mussato (2009), indicando que o *trub* não pode ser considerado uma fonte de lipídeos. Para a fibra bruta encontrou-se um teor de $0,23 \pm 0,19$ g 100 g⁻¹, porém diferente do teor de fibra bruta (23,6 g 100 g⁻¹) encontrado por Mussato (MUSSATTO, 2009), o que também pode ser explicado pelos ingredientes e processamento utilizados no preparo das cervejas (KERBY; VRIESEKOOOP, 2017; MUSSATTO, 2009; OSORIO-PAZ; BRUNAUER; ALAVEZ, 2019).

Conforme observado na Tabela 6, o subproduto cervejeiro também apresentou um alto teor de água ($87 \pm 0,01\%$), resultado da perda de mosto na precipitação desses compostos após a etapa da fervura, sendo confirmado por valores (entre 80 e 90%) encontrados na literatura (CIMINI; MORESI, 2021; COSTA *et al.*, 2020). Para o teor de cinzas e sólidos totais obteve-se valores de aproximadamente $0,61$ g 100 g⁻¹ e $12,40 \pm 0,12\%$, respectivamente, o que pode ser justificado pela definição de sua formação, ou seja, a presença de cátions, como fosfato de

cálcio, ao qual pode obter resultados em torno de 2% em relação ao teor de cinzas, e presença de compostos precipitados durante a formação (MARSON *et al.*, 2020; MATHIAS, 2015).

O pH do *trub* foi em torno de 5,36 e está relacionado à propriedade do malte em baixar o pH para facilitar a conversão do amido em carboidratos menores pelas enzimas durante a mosturação. Ainda, na fervura do mosto, geralmente ocorre precipitação do fosfato de cálcio, alterando o pH do meio (MARSON *et al.*, 2020). Além disso, compostos como os ácidos graxos (COSTA *et al.*, 2020) e a presença de uma fração de ácido do lúpulo em sua composição promove um aumento em sua acidez total titulável (DURELLO; SILVA; BOGUSZ JR., 2019; MUSSATTO, 2009). A condutividade elétrica encontrada foi de $1325,33 \pm 0,57 \mu\text{S cm}^{-1}$, valor relacionado diretamente com o teor de sais minerais presentes no resíduo, uma vez que a presença de partículas inorgânicas, pode aumentar a condutividade elétrica da solução (COSTA *et al.*, 2020).

Vale lembrar que a composição do *trub* quente, assim como todos outros resíduos gerados no processo cervejeiro, é influenciada por diversos fatores, entre eles o tipo de cevada (composição, fatores climáticos e processos de secagem do malte), proporções e tipos de adjuntos cervejeiros adicionados, processo de moagem, controle do processo, pH, teor de íons e polifenóis, tempo de processo, homogeneização, níveis de oxidação durante o processo de fervura do mosto e fatores relacionados ao lúpulo (tipo, concentração e solubilidade das substâncias) (MAIA, 2020; MARSON *et al.*, 2020; SIQUEIRA *et al.*, 2008).

4.2.2 Compostos bioativos

Na Tabela 7, estão descritas as características relacionadas à presença de compostos bioativos do *trub* quente.

Tabela 7 - Compostos fenólicos e capacidade antioxidantes do *trub* quente.

Compostos fenólicos totais (mg GAE g ⁻¹ de <i>trub</i>)	Flavonoides totais (mg 100 g ⁻¹)	DPPH (mg GAE mL ⁻¹)	ABTS (mg GAE mL ⁻¹)
0,39 ± 0,01	18,04 ± 0,78	8,57 ± 0,03	0,41 ± 0,01

O teor de compostos fenólicos para o *trub* foi de $0,39 \pm 0,01$ (mg GAE g⁻¹ de *trub*). A análise química quantitativa conduzida por Costa *et al.*, (2020), mostrou que as frações de Butanol (13390 mg GAE mg⁻¹) e Acetato de etila (12280 mg GAE mg⁻¹) continham maiores concentrações de compostos fenólicos do que as frações extrato etanólico bruto (8940 mg GAE mg⁻¹), mostrando que a maior parte desses compostos tem uma maior

polaridade (ALVES, M. J.; MOURA, A. K. S.; COSTA, L. M.; ARAÚJO, E. J. F.; SOUSA; COSTA, N. D. J.; FERREIRA, P. M. P.; SILVA, J. N.; PESSOA, C.; LIMA; CITÓ, 2014). Esse valor pode estar relacionado às condições do processo empregado na cervejaria, ou seja, na etapa de fervura o mosto é submetido a temperaturas que podem variar entre 70 e 80 °C, fato que pode levar a quantidades incertas de compostos bioativos presente no subproduto. Assim, é necessário utilizar formas de otimizar a extração dos compostos de interesse; entre as técnicas, a EAU será estudada mais adiante (ALMEIDA *et al.*, 2020; MARSON *et al.*, 2020; RODRIGUES *et al.*, 2021).

Além disso, o *trub* avaliado apresentou um teor de flavonoides totais $18,04 \pm 0,78 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, enquanto COSTA (2017) quantificou valores de aproximadamente $1,2 \text{ mg EQ g}^{-1}$ (equivalente em quantidades de quercetina). O teor encontrado pelo autor acima pode ser explicado pelo método utilizado, uma vez que não existe método padrão para quantificar o teor total de flavonoide presente na amostra (MARKAKIS, 1982; STEVENS *et al.*, 1997). Por se tratar de um resíduo obtido a partir de um intenso processo de extração, supõe-se que a maioria dos flavonoides do malte ou do lúpulo são extraídos e ficam no mosto cervejeiro, restando no *trub* apenas os compostos menos polares (JURADO; SØRENSEN, 2012; STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015).

A presença de compostos fenólicos e flavonoides está relacionada com a atividade antioxidante deste composto, a qual está mostrada na Tabela 7. Foram encontrados valores de $8,57 \pm 0,03 \text{ mg GAE mg}^{-1}$ e $0,41 \pm 0,01 \text{ mg GAE mg}^{-1}$, para os métodos por DPPH e ABTS, respectivamente. Estes valores estão acima dos relatados Costa et al (2020), (DPPH: $0,0033 \text{ mg GAE mg}^{-1}$ e ABTS: $0,0010 \text{ mg GAE mg}^{-1}$) que pode ser justificar pelo tipo de processo e/ou quantidades de ingredientes utilizados na produção da cerveja (RUFINO, M. DO S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. DE; MORAIS, S. M. DE; SAMPAIO, C. DE G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, 2007a, 2007b). Vale lembrar que, as alterações na expressão da atividade antioxidante, quando mensuradas por diferentes métodos, sugerem que diferentes mecanismos de ação estejam envolvidos. Existe uma maior ou menor afinidade entre os compostos com propriedades antioxidantes presentes no extrato e os reagentes utilizados (CARBONE *et al.*, 2020; DURELLO; SILVA; BOGUSZ JR., 2019). Isso significa que os compostos da fração sólida do *trub* são mais capazes de eliminar radicais livres pelo método ABTS por causa de suas concentrações mais baixos em comparação com o método de radicais livres DPPH (ALMEIDA *et al.*, 2020; CAMELO-SILVA *et al.*, 2021; SILVA, 2018).

Portanto, é importante usar técnicas ecologicamente corretas, incluindo extração assistida por ultrassom, que pode recuperar compostos de valor agregado de subprodutos da

cerveja, como *trub*. Se, por um lado, os resíduos e desperdícios de lúpulo constituem resíduos da indústria agroalimentar com elevado impacto ambiental ou dispendiosos para uma eliminação correta, por outro lado representam um interessante conjunto de compostos de origem de elevado valor biológico, que podem ser recuperados usando extração assistida por ultrassom.

4.3 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM

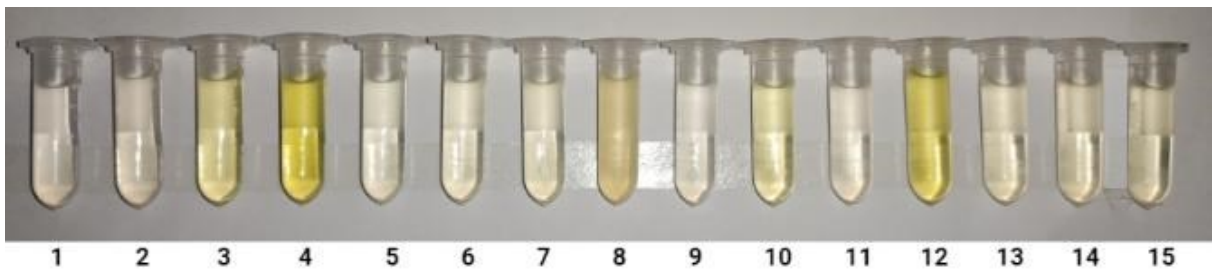
A Tabela 8 apresenta as condições experimentais e os teores de compostos fenólicos de cada ponto do planejamento Box-Behnken. O conteúdo máximo extraído de CFT foi de 19,14 mg GAE g⁻¹ de *trub* (ensaio 8), o qual representa um aumento cerca 49 vezes quando comparado com o teor de CFT do *trub* (0,39 mg GAE g⁻¹ de *trub*); e cerca de 164 vezes quando comparado com o menor valor do planejamento Box-Behnken, 0,12 mg GAE g⁻¹ de *trub*, (ensaio 9). Em relação à concentração de solvente de grau alimentício utilizada neste estudo, observou-se um aumento não linear no teor de fenólicos com o aumento da concentração de solvente orgânico (ALMEIDA *et al.*, 2020). Por outro lado, difere do aumento linear relatado em outras literaturas, com maior produção de polifenóis detectada em amostras com maior teor de etanol (CARBONE *et al.*, 2020; KUMAR; SRIVASTAV; SHARANAGAT, 2021). É possível que o ultrassom tenha provocado certa degradação de compostos devido à geração de radicais livres durante a cavitação do solvente no processo extrativo (AL-DHABI; PONMURUGAN; MARAN JEGANATHAN, 2017; CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011), o que explica sua não linearidade. Fotografias indicando as amostras obtidas ao final de cada ensaio podem ser visualizadas na Figura 15.

Segundo a literatura, diversos fatores de entrada podem influenciar o rendimento de extração, como tempo de aplicação do ultrassom, temperatura, concentração de etanol entre outros; entretanto, ressalta que o principal fator que afeta o conteúdo fenólico total é a concentração do solvente utilizado (etanol), além disso cada subproduto (ou matriz) podem apresentar comportamentos diferentes (KUMAR; SRIVASTAV; SHARANAGAT, 2021).

Tabela 8 - Matriz do planejamento experimental Box-Behnken, com suas respectivas variáveis de entrada e a variável resposta (CFT).

Ensaio	Variáveis de entrada			CFT mg GAE g ⁻¹ de <i>trub</i>
	Etanol % vol.	Razão sólido/líquido G mL ⁻¹	Temperatura °C	
01	10	1/20	45	2,21 ± 0,03
02	10	3/20	45	4,17 ± 0,09
03	90	1/20	45	6,34 ± 0,11
04	90	3/20	45	14,71 ± 0,09
05	50	1/20	30	2,94 ± 0,11
06	50	3/20	30	8,02 ± 0,08
07	50	1/20	60	5,64 ± 0,13
08	50	3/20	60	19,14 ± 0,03
09	10	2/20	30	0,12 ± 0,01
10	90	2/20	30	6,15 ± 0,03
11	10	2/20	60	3,47 ± 0,06
12	90	2/20	60	14,62 ± 0,07
13	50	2/20	45	8,97 ± 0,08
14	50	2/20	45	10,07 ± 0,05
15	50	2/20	45	9,51 ± 0,08

Figura 15 - Amostras finais dos extratos do *trub* quente após a extração assistida por ultrassom (EAU), ensaios de 1 a 15.



Fonte: Própria autoria

A extração dos compostos fenólicos está diretamente relacionada com a afinidade da mistura de solventes com o soluto. Aumentar a concentração de etanol aumenta o rendimento de compostos fenólicos até a concentração máxima de etanol e então afeta negativamente o rendimento (ALMEIDA *et al.*, 2020). Isso pode ser explicado pelo aumento da solubilidade e difusividade dos compostos fenólicos devido à diminuição da constante dielétrica do solvente com o aumento da concentração de etanol (AL-DHABI; PONMURUGAN; MARAN

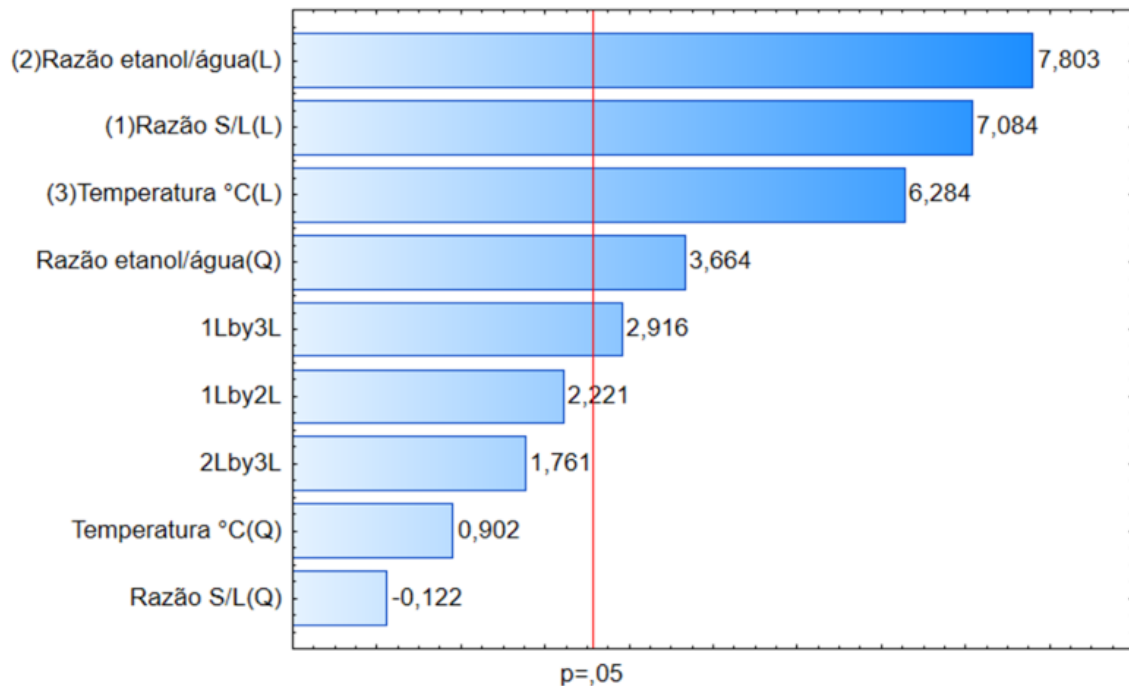
JEGANATHAN, 2017; ALMEIDA *et al.*, 2020). Entretanto, concentrações de etanol próximas a 100%, ou seja, etanol de alta pureza, podem causar desidratação do tecido vegetal e desnaturação de proteínas, resultando em rendimentos mais baixos (CARBONE *et al.*, 2020; KUMAR; SRIVASTAV; SHARANAGAT, 2021).

A temperatura é um fator chave para a extração de compostos fenólicos, pois temperaturas altas podem aumentar os rendimentos de extração, mas também promover a degradação (oxidação) dos compostos extraídos (AL-DHABI; PONMURUGAN; MARAN JEGANATHAN, 2017; RODRIGUES *et al.*, 2021). Dois fenômenos que desempenham um papel importante na EAU são a cavitação e os efeitos térmicos. O efeito de cavitação ajuda a romper a matriz do material, fornecendo uma onda de choque de alta intensidade na ruptura do núcleo de cavitação. A intensidade e ocorrência deste efeito depende da pressão de vapor do solvente, a qual é proporcional à temperatura do solvente (até 51 °C) (AL-DHABI; PONMURUGAN; MARAN JEGANATHAN, 2017; AMEER; SHAHBAZ; KWON, 2017). Os efeitos térmicos estão relacionados à transferência de massa do processo e à estabilidade dos compostos, pois um aumento da temperatura pode causar degradação da matriz do *trib* e aumento da difusão dos compostos fenólicos para o solvente, ao mesmo tempo que pode levar à degradação dos compostos sensíveis (KHAW *et al.*, 2017). Portanto, quando a temperatura é elevada acima de 51 °C por um longo tempo, os compostos fenólicos podem ser degradados, uma vez que são sensíveis a alta temperatura.

Com base nesses resultados, realizou-se uma otimização destes parâmetros, sendo que na Figura 16 estão mostrados os efeitos da variável de entrada bem como sua interação com a variável resposta (CFT), considerando 95% de confiança e probabilidade de significância $p < 0,05$.

O efeito estimado do fator de entrada na concentração de CFT foi observado no domínio experimental de acordo com a Figura 16. Os resultados mostram que todos os efeitos lineares têm influência positiva na extração de compostos fenólicos, sendo a razão etanol/água a mais influente, seguida da razão sólido/líquido e temperatura, além da razão etanol/água no efeito quadrático e, por fim, a interação entre etanol/água e temperatura. Todos os outros efeitos não tiveram efeito significativo no conteúdo fenólico. Isso pode ser explicado, porque o *trib* contém maior quantidade de compostos polares e tem maior afinidade pelo etanol (polar) (AL-DHABI; PONMURUGAN; MARAN JEGANATHAN, 2017; CARBONE *et al.*, 2020; KUMAR; SRIVASTAV; SHARANAGAT, 2021).

Figura 16 - Efeitos estimados e de interação sob o teor de compostos fenólicos totais.



*L: Efeito linear, Q: Efeito quadrático

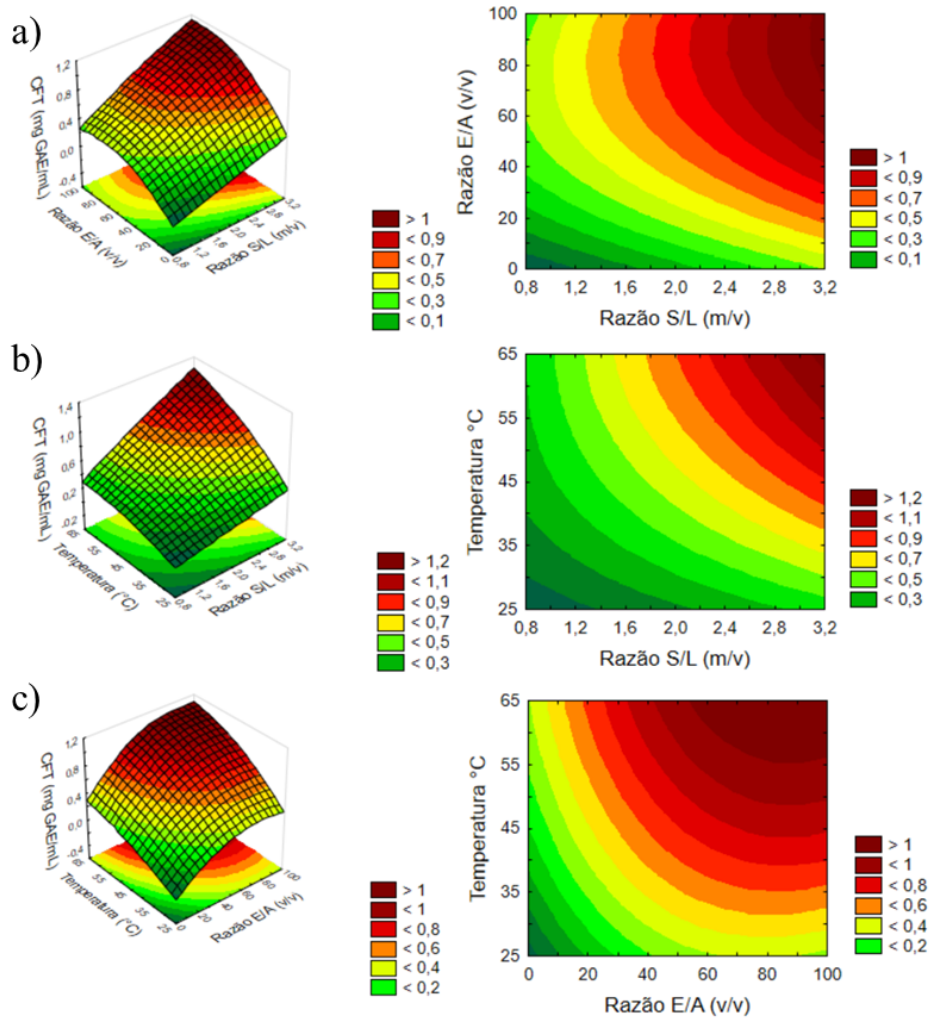
Foi proposto então um modelo polinomial de segunda ordem, que expressou o efeito das variáveis independentes sobre o teor de compostos fenólicos com base em coeficientes de regressão e análise de resíduos. Os coeficientes de regressão da resposta CFT do modelo polinomial proposto (Equação 4) foram estimados pelo método dos mínimos quadrados (*Software* Statistica 13.0) em função das variáveis de entrada. O modelo proposto apresentou um coeficiente de determinação ajustado (R^2) superior a 0,92 pelo teste ANOVA, indicando que a equação proposta explica em 92% as variabilidades experimentais (BENVENUTTI, 2018; RODRIGUES; IEMMA, 2014).

$$CFT = 0,948 + 0,939X_1 + 1,034X_2 + 0,833X_3 + 0,357X_2^2 + 0,546X_1X_3 \quad \text{Equação 4}$$

em que X_1 ; X_2 ; e X_3 representam a razão S/L (m/v); razão etanol/ água (v/v) e temperatura (°C), respectivamente.

De acordo com Derringer e Suich (1980), condições ótimas simultâneas para todas as variáveis podem ser previstas, chamadas de pontos ótimos, otimizando então o desempenho do sistema, o qual pode ser visualizado por meio superfície de resposta (RSM) e sua respectiva curva de contorno (Figura 17 a, b e c) (AL-DHABI; PONMURUGAN; MARAN JEGANATHAN, 2017; ALMEIDA *et al.*, 2020).

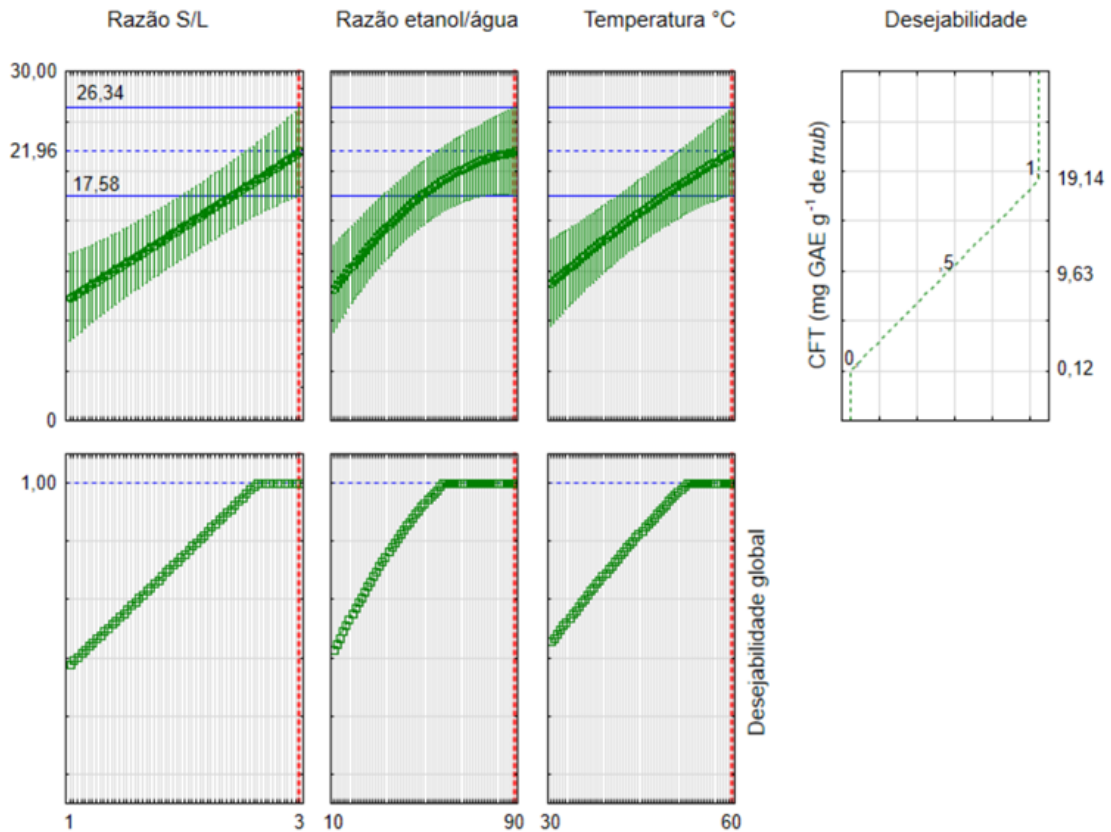
Figura 17 - Superfícies de resposta e curvas de contorno mostrando o efeito de variáveis independentes no teor de compostos fenólicos totais.



a) Relação entre a razão etanol/água (v/v) e razão sólido/líquido (m/v); b) Relação entre temperatura e razão sólido/líquido (m/v); c) Relação entre temperatura e razão etanol/água (v/v). A variável independente que não aparece em cada superfície de resposta foi fixada no seu valor médio.

A Figura 18 apresenta o diagrama da função desejabilidade obtido, em que as linhas tracejadas em vermelho mostram a melhor condição no processo de extração assistida por ultrassom. Isso fica claro ao observarmos as superfícies de respostas e suas condições de contorno, Figura 17.

Figura 18 - Perfis para os valores preditos e a função desejabilidade.



A condição ótima para extração de compostos fenólicos, determinada por análise estatística, foi definida como: razão sólido/líquido 3/20, concentração de etanol de 90% e temperatura de 60 °C, o que representa um valor predito de 21,96 mg GAE g⁻¹ de *trub*. O valor de desejabilidade máxima global encontrado por esta técnica de otimização foi igual a 1.

Esse ponto de máxima extração de CFT foi validado realizando novo experimento nas condições ótimas, obtendo o valor experimental de 24,13 mg GAE g⁻¹ de *trub*, ou seja, um erro percentual de 9,86%. Assim, pode-se verificar que a resposta do modelo refletiu conforme o resultado esperado, com intervalo de 95% de confiança.

Dado o potencial de recuperação de compostos bioativos a partir de resíduos agroindustriais, mesmo com todas as alternativas de processamento e acesso a subprodutos de alto valor agregado, há poucos relatos na literatura sobre métodos de extração, concentração ou purificação de compostos bioativos oriundos do *trub* quente. Portanto, combinar a extração assistida por ultrassom com a tecnologia de separação por membrana se mostra ser um mecanismo muito promissor para a recuperação e purificação de compostos de alto valor agregado do *trub*.

4.4 CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

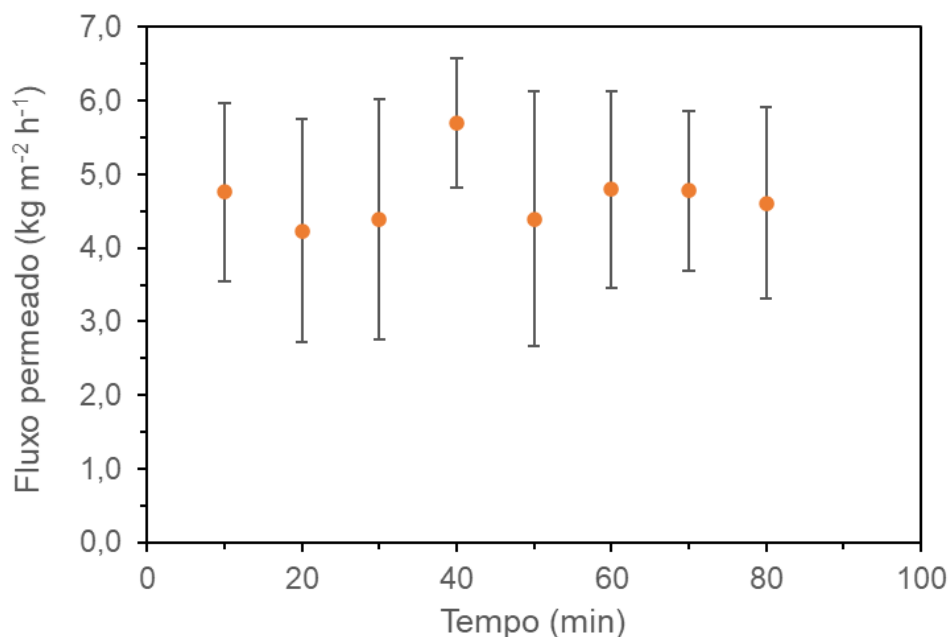
4.4.1 Teste preliminares

No sistema *dead-end* de membranas três membranas de nanofiltração, sendo a NFW (300–500 Da) e as NF090801 (350 Da) e NF030306 (500–1000 Da), e uma de osmose inversa TW30 (100 Da) foram testadas preliminarmente. As membranas foram compactadas nas mesmas condições (18 bar à 25 °C com etanol 90%), seguido da coleta do fluxo permeado como fator determinante para seleção da membrana utilizada na concentração do extrato. As membranas NF090801, NF030306 e a TW30 não apresentaram fluxo permeado suficiente para realizar as análises, provavelmente por causa da baixa pressão transmembrana aplicada e baixa afinidade pelo etanol. Vários fatores são responsáveis pela permeação de solvente e solutos pela membrana, geralmente relacionados com as propriedades da membrana, da solução de alimentação e as condições de operação (BASTOS *et al.*, 2020; TAPIA-QUIRÓS *et al.*, 2022a). Assim, membrana NFW, que apresentou fluxo mais elevado, foi utilizada para dar continuidade aos experimentos.

4.4.2 Avaliação de fluxo permeado

A Figura 19 apresenta o fluxo de permeado obtido para a etapa de compactação da membrana NFW (300–500 Da) em 80 minutos de operação.

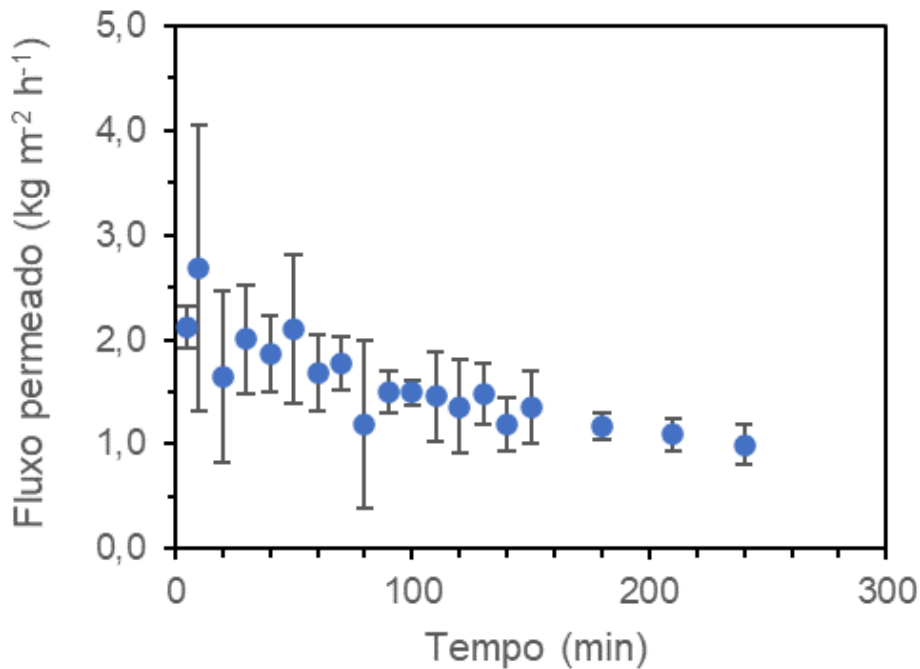
Figura 19 - Fluxo permeado de etanol 90% médio na compactação.



Observa-se uma alta variabilidade dos dados em cada tempo e um fluxo permeado médio de $4,5 \text{ kg m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ ao final da compactação. As propriedades finais das membranas exibem um equilíbrio entre intumescimento e diminuição do tamanho dos poros devido à reorganização da cadeia polimérica e efeitos de compactação devido à exposição da membrana às pressões utilizadas durante a filtração (MUÑOZ *et al.*, 2021; TAPIA-QUIRÓS *et al.*, 2022a). Esse equilíbrio determinará o desempenho da membrana em termos de retenção e sensibilidade à incrustação interna (BASTOS *et al.*, 2020; GARNIER *et al.*, 2020).

Após a compactação da membrana, o extrato obtido no processo otimizado de extração assistida por ultrassom foi concentrado e o declínio de fluxo de permeado em função do tempo está mostrado na Figura 20.

Figura 20 - Fluxo permeado médio em função do tempo obtida para a membrana de nanofiltração a pressão de 18 bar.



O decaimento lento do fluxo médio permeado foi observado para membrana de NFW durante os primeiros 100 min de operação; depois disso, a redução do fluxo permeado foi menos pronunciada no restante do tempo, chegando em um total de 240 minutos de permeação. A redução do fluxo permeado pode ser atribuída ao efeito combinado de adsorção dos componentes do extrato e obstrução dos poros, bem como ao efeito do aumento das concentrações de compostos retidos (MUÑOZ *et al.*, 2021). Os fluxos médios permeados encontrados em nosso estudo variaram de $2,7 \text{ kg m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ a $1,0 \text{ kg m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ em pressão constante

de 18 bar à 25 °C e apresentaram o mesmo comportamento relatados na literatura por Muñoz et al. (2021) e Law & Mohammad (2017), que utilizaram a NFW em estudos de PSM. As diferenças observadas, neste estudo, podem ser atribuídas a distintos fatores, incluindo características do extrato, condições de extração, bem como à polarização por concentração e colmatação da superfície da membrana, formação de camada de gel e a adesão de soluto (CIMINI; MORESI, 2018; RODRIGUES *et al.*, 2021; TAPIA-QUIRÓS *et al.*, 2022a).

A Tabela 9 mostra os resultados da caracterização de amostras da alimentação, concentrado e permeado, em termos de CFT, flavonoides, DPPH e ABTS.

Tabela 9 - Caracterização das frações obtidas por nanofiltração quanto a concentração de compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides, e atividade antioxidante método de DPPH e ABTS.

Característica	Alimentação	NFW	
		Concentrado	Permeado
CFT (mg GAE g ⁻¹)	32,21 ± 0,28	36,85 ± 0,22	3,54 ± 0,36
Flavonoides (mg 100g ⁻¹)	16,48 ± 0,72	19,94 ± 1,72	0,015 ± 0,02
DPPH (mg GAE mL ⁻¹)	5,46 ± 0,15	5,73 ± 0,05	5,63 ± 0,17
ABTS (mg GAE mL ⁻¹)	ND*	ND*	ND*

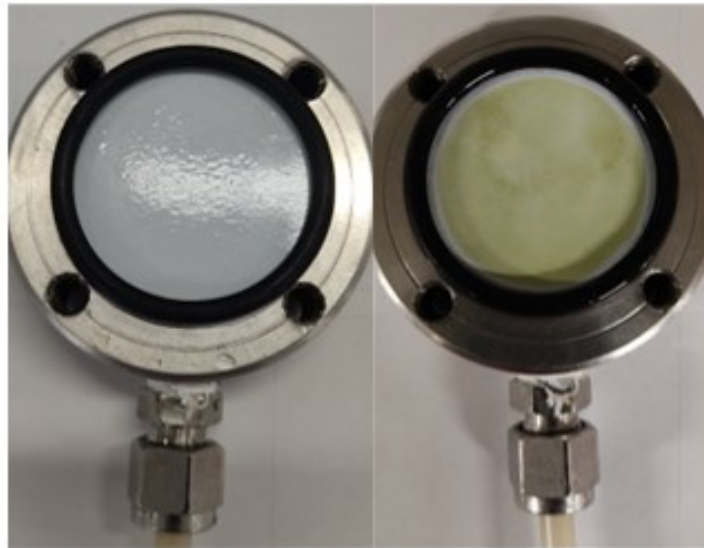
*ND: Não detectado

NOTA: Os resultados desta tabela são oriundos de outra batelada

No processo de NF, foi obtido um fator de redução volumétrico (FRV) de cerca de 1,43 e um fator de concentração de CFT de aproximadamente 1,14. Os resultados obtidos indicam um coeficiente de rejeição em torno de 90% a estes compostos, semelhante ao trabalho de Muñoz et al. (2021), que apresentaram uma rejeição de 91% de compostos fenólicos na concentração de vinhaça de cana-de-açúcar. A alta rejeição aos compostos fenólicos está relacionada com diferença existente entre tamanho das moléculas dos compostos (geralmente acima de 500 Da) e a massa molar de corte da membrana (entre 300 e 500 Da), além da interação da solução com a superfície da membrana (TAPIA-QUIRÓS *et al.*, 2022a). Em complemento, Li et al. (2020) afirmam que a ligação de CFT e outros solutos presentes na solução, como carboidratos e proteínas, pode resultar em partículas maiores que são retidas na

camada filtrante da membrana e muitas vezes levam ao fenômeno conhecido como *fouling* (AREND, 2016; OCHANDO-PULIDO *et al.*, 2017). Como pode ser visualizado na Figura 21, que mostra fotografia da membrana antes e após a sua utilização na concentração, há a formação de uma camada amarelo-esverdeada, característica do extrato.

Figura 21 - Membrana polimérica NFW antes e após o processo de permeação.



Fonte: Própria autoria

Com relação à presença de flavonoides no *trub* quente, pode-se considerar que o teor é relativamente baixo. Uma vez que esses compostos são bastante sensíveis a altas temperaturas, podem ter sido degradados durante a etapa de fervura do processo cervejeiro (COSTA *et al.*, 2020; LEGETTE *et al.*, 2014; RODRIGUES *et al.*, 2021). Embora em baixa concentração na alimentação, os flavonoides também se comportaram de forma semelhante ao CFT, ou seja, um teor de flavonoides cerca de 20% maior foi obtido no concentrado ($19,94 \pm 1,72 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) do que no extrato de *trub* quente ($16,48 \pm 0,72 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) adicionado no processo. Observando a concentração de flavonoides da fração permeada ($0,015 \pm 0,02 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), percebe-se que foi inferior aos flavonoides totais do extrato utilizado na alimentação, confirmando assim a eficácia da separação de flavonoides durante o uso das membranas. A adsorção de moléculas nas paredes dos poros resulta em uma redução efetiva desses tamanhos de poros, o que leva a uma diminuição no fluxo de permeado e um aumento na rejeição da membrana, o que explica a rejeição de aproximadamente 99 % e fatores de concentração de flavonoides de 1,21 ao final do processo de. Esses resultados são consistentes com Tapia-Quirós

et al. (2022b), os quais obtiveram uma rejeição máxima entre 78,5% e 84,2% de extratos de bagaço de azeitona usando membranas de NF (membranas NF90 e Duracid).

Para os dois radicais livres testados (DPPH e ABTS), a atividade antioxidante pode ser observada em diferentes frações, conforme apresentado na Tabela 8. As diferentes frações apresentaram capacidade antioxidante com poucas variações quando comparado por método de DPPH, exceto para a frações quantificadas pelo método da captura de radicais por ABTS, o qual não foi detectado.

Segundo Rufino et al. (2007a, 2007b), os métodos DPPH são capazes de trabalhar por meio de diferentes mecanismos, utilizando processos que vão desde a redução direta até a captura de radicais ou via transferência de átomos de hidrogênio. Além disso, Camelo-Silva (2020) e Rodrigues et al. (2021) relataram que variações nas concentrações de água e mudanças de pH nas amostras levam a alterações na cinética das reações de radicais livres, alterando assim a determinação da atividade antioxidante.

Os resultados encontrados neste trabalho sugerem que o método DPPH é mais eficaz em exibir a atividade antioxidante das frações obtidas do extrato de *trub* quente, uma vez que pelo método ABTS não foi detectada, tornando difícil exibir a real capacidade antioxidante. Este método é adequado para sistemas hidrofóbicos, enquanto o método ABTS é mais eficiente em sistemas hidrofílicos e hidrofóbicos (RUFINO, M. DO S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. DE; MORAIS, S. M. DE; SAMPAIO, C. DE G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, 2007a, 2007b). Além disso, também devem levar em conta que diferentes métodos analíticos não conseguem capturar todos os compostos antioxidantes presentes na amostra (AREND, 2016; CIMINI; MORESI, 2018; DURELLO; SILVA; BOGUSZ JR., 2019; RUIZ-RUIZ *et al.*, 2020).

CONCLUSÃO

O *Trub* quente pode ser uma fonte de compostos de interesse em diversas áreas, agregando valor ao subproduto, além de minimizar os impactos negativos causados ao meio ambiente. O *trub* quente utilizado neste trabalho, obtido de uma cervejaria local, tem cerca de 48% de sólidos e 52% de mosto que poderia retornar ao processo cervejeiro minimizando a perda de cerveja no final do processo. Ao realizar a caracterização físico-química e dos compostos bioativos do *trub* quente neste trabalho, observou-se que a sua composição apresenta forte potencial benéfico, o qual pode incentivar seu uso na produção de cervejas com melhores propriedades sensoriais, funcionais ou nutricionais. Além disso, as aplicações médicas dos compostos bioativos, entre eles o XN, original do lúpulo, também são promissoras devido aos diversos efeitos farmacológicos. Até onde sabemos, há poucos relatórios na literatura sobre técnicas de extração e recuperação de compostos bioativos a partir do *trub* quente. Nesse sentido, com a extração assistida por ultrassom associados ao PSM, foi possível recuperar compostos bioativos do *trub* quente bem como obter identificar as condições ótimas para sua extração (razão sólido/líquido 3/20, concentração de etanol de 90% e temperatura de 60 °C), obtendo um valor igual a 24,13 mg GAE g⁻¹ de *trub* de CFT. Ainda, foi possível observar que a nanofiltração com membrana de massa molar de corte igual a 300–500 Da foi capaz de concentrar os compostos fenólicos em 36,85 ± 0,22 mg GAE g⁻¹, e de flavonoides em 19,94 ± 1,72 mg GAE g⁻¹. Embora não tenha sido possível verificar atividade antioxidante dos extratos por ABTS, a análise por DPPH mostrou que há e que este método pode ser mais interessante para este tipo de extrato. Conclui-se então, que o uso de tecnologias verde de extração, como a assistida por ultrassom e uso de solvente verde em conjunto com a nanofiltração possui potencial aplicação para a obtenção de compostos bioativos a partir do resíduo *trub* quente de cervejaria.

REFERÊNCIAS

AL-DHABI, N. A.; PONMURUGAN, K.; MARAN JEGANATHAN, P. Development and validation of ultrasound-assisted solid-liquid extraction of phenolic compounds from waste spent coffee grounds. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 206–213, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.05.005>. Acesso em: 31 ago. 2020.

ALMEIDA, A. da R.; MACIEL, M. V. de O. B.; MACHADO, M. H.; BAZZO, G. C.; ARMAS, R. D.; VITORINO, V. B.; VITALI, L.; BLOCK, J. M.; BARRETO, P. L. M. Bioactive compounds and antioxidant activities of Brazilian hop (*Humulus lupulus* L.) extracts. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 55, n. 1, p. 340–347, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ijfs.14311>. Acesso em: 31 ago. 2020.

ALVES, M. J.; MOURA, A. K. S.; COSTA, L. M.; ARAÚJO, E. J. F.; SOUSA, G. M. .; COSTA, N. D. J.; FERREIRA, P. M. P.; SILVA, J. N.; PESSOA, C.; LIMA, S. G. .; CITÓ, A. M. G. L. Phenol and flavonoid content, antioxidant and cytotoxic activities of leaves, fruits, fruit peels and seeds of *Piptadenia moniliformis* Benth (Leguminosae–Mimosoideae). **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 13, n. 5, p. 466 – 476, 2014. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85632125004>. Acesso em: 16 maio. 2022.

AMBROSI, A.; CARDOZO, N. S. M.; TESSARO, I. C. Membrane Separation Processes for the Beer Industry: A Review and State of the Art. **Food and Bioprocess Technology**, v. 7, n. 4, p. 921–936, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S11947-014-1275-0/FIGURES/4>. Acesso em: 2 mar. 2023.

AMEER, K.; SHAHBAZ, H. M.; KWON, J.-H. Green Extraction Methods for Polyphenols from Plant Matrices and Their Byproducts: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, n. 2, p. 295–315, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12253>

ANIOL, M.; ZOLNIERCZYK, A. Extraction of spent hops using organic solvents. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 66, n. 4, p. 208–214, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2008-0818-01>

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21. ed. Washington DC: American Publications, 2005. *E-book*. Disponível em: [https://www.scrip.org/\(S\(czeh2tfqyw2orz553k1w0r45\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1870039](https://www.scrip.org/(S(czeh2tfqyw2orz553k1w0r45))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1870039). Acesso em: 28 jun. 2022.

AREND, G. D. **CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DO SUCO DE MORANGO (*Fragaria x. ananassa* Duch.) POR NANOFILTRAÇÃO**. 2016. - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA, Florianópolis, SC, 2016.

ARRUDA, T. R.; PINHEIRO, P. F.; SILVA, P. I.; BERNARDES, P. C. A new perspective of a well-recognized raw material: Phenolic content, antioxidant and antimicrobial

activities and α - and β -acids profile of Brazilian hop (*Humulus lupulus* L.) extracts. **LWT**, v. 141, p. 110905, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110905>

AVRAMIA, I.; AMARIEI, S. Spent Brewer's yeast as a source of insoluble β -glucans. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 2, p. 1–26, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms22020825>

BARTMAŃSKA, A.; WAŁECKA-ZACHARSKA, E.; TRONINA, T.; POPŁOŃSKI, J.; SORDON, S.; BRZEZOWSKA, E.; BANIA, J.; HUSZCZA, E. Antimicrobial Properties of Spent Hops Extracts, Flavonoids Isolated Therefrom, and Their Derivatives. **Molecules**, v. 23, n. 8, p. 2059, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules23082059>

BARTOLOMEÉ, B.; SANTOS, M.; JIMÉNEZ, J. J.; DEL NOZAL, M. J.; GÓMEZ-CORDOVEÉS, C. Pentoses and Hydroxycinnamic Acids in Brewer's Spent Grain. **Journal of Cereal Science**, v. 36, n. 1, p. 51–58, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/JCRS.2002.0442>

BASTOS, P. D. A.; SANTOS, M. A.; CARVALHO, P. J.; CRESPO, J. G. Reverse osmosis performance on stripped phenolic sour water treatment – A study on the effect of oil and grease and osmotic pressure. **Journal of Environmental Management**, v. 261, p. 110229, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110229>. Acesso em: 31 maio. 2022.

BEDINI, S.; FLAMINI, G.; GIRARDI, J.; COSCI, F.; CONTI, B. Not just for beer: evaluation of spent hops (*Humulus lupulus* L.) as a source of eco-friendly repellents for insect pests of stored foods. **Journal of Pest Science**, v. 88, n. 3, p. 583–592, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10340-015-0647-1>

BENVENUTTI, L. **AVALIAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DO BAGAÇO DE MAÇÃ COM ETANOL PARA APLICAÇÃO EM SIDRA**. 2018. - UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA PRÓ-REITORIA, PONTA GROSSA, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00539>
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.06.029>
[http://www.cpsg.org/sites/cbsg.org/files/documents/Sunda Pangolin National Conservation Strategy and Action Plan %28LoRes%29.pdf](http://www.cpsg.org/sites/cbsg.org/files/documents/Sunda_Pangolin_National_Conservation_Strategy_and_Action_Plan%28LoRes%29.pdf)
<https://doi.org/10.1016/j.forec>

BOCQUET, L. *et al.* Phenolic compounds from humulus lupulus as natural antimicrobial products: New weapons in the fight against methicillin resistant staphylococcus aureus, leishmania mexicana and trypanosoma brucei strains. **Molecules**, v. 24, n. 6, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules24061024>

BOX, G. E. P.; BEHNKEN, D. W. Some New Three Level Designs for the Study of Quantitative Variables. **Technometrics**, v. 2, n. 4, p. 455, 1960. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/1266454>

BRANDÃO, R. Cerveja contribuiu com 2,1% do PIB brasileiro em 2021 | Brasil e Política | Valor Investe. **Valor**, São Paulo, 2021 Disponível em:

<https://valorinveste.globo.com/mercados/brasil-e-politica/noticia/2022/03/05/cerveja-contribuiu-com-21-pontos-percentuais-do-pib-brasileiro-em-2021.ghtml>. Acesso em: 24 jun. 2022.

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. **Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas.**, Brasília-DF, p. 7, 2009. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/decreto-no-6-871-de-4-de-junho-de-2009.pdf/view>. Acesso em: 11 nov. 2020.

BRASIL, M. Anuário da cerveja: 2021. **Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento**, p. 24, 2021. Disponível em: http://www.cervbrasil.org.br/novo_site/wp-content/uploads/2021/04/anuariocerveja2.pdf. Acesso em: 24 jun. 2022.

CAMELO-SILVA, C.; BARROSO, N. G.; BARROS, E. L. da S.; SANCHES, M. A. R.; VERRUCK, S.; TUSSOLINI, L. INOVAÇÕES E TENDÊNCIAS NA UTILIZAÇÃO DO FRUTO DE BURITI (MAURITIA FLEXUOSA L.) E SEUS SUBPRODUTOS. **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Volume 1**, p. 253–262, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.37885/201102159>

CAMELO-SILVA, C.; RIBEIRO SANCHES, M. A.; BRITO, R. M.; DEVILLA, I. A.; TUSSOLINI, L.; PERTUZATTI, P. B. Influence of buriti pulp (Mauritia Flexuosa L.) concentration on thermophysical properties and antioxidant capacity. **LWT**, v. 151, p. 112098, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.112098>

CARBONE, K.; MACCHIONI, V.; PETRELLA, G.; CICERO, D. O. Exploring the potential of microwaves and ultrasounds in the green extraction of bioactive compounds from *Humulus lupulus* for the food and pharmaceutical industry. **Industrial Crops and Products**, v. 156, n. August, p. 112888, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112888>

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A.-G.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO-TIXIER, A.-S.; ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 540–560, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>. Acesso em: 14 nov. 2022.

CHEMAT, F.; ZILL-E-HUMA; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 4, p. 813–835, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023>. Acesso em: 9 ago. 2021.

CHEN, C. Y.; KAO, C. L.; LIU, C. M. The cancer prevention, anti-inflammatory and anti-oxidation of bioactive phytochemicals targeting the TLR4 signaling pathway. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 9, p. 2729, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms19092729>. Acesso em: 26 maio. 2021.

CHEN, Q. H.; FU, M. L.; CHEN, M. M.; LIU, J.; LIU, X. J.; HE, G. Q.; PU, S. C. Preparative isolation and purification of xanthohumol from hops (*Humulus lupulus* L.) by high-speed counter-current chromatography. **Food Chemistry**, v. 132, n. 1, p. 619–623, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.098>

CIMINI, A.; MORESI, M. Beer Clarification Using Ceramic Tubular Membranes. **Food and Bioprocess Technology**, v. 7, n. 9, p. 2694–2710, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S11947-014-1338-2>

CIMINI, A.; MORESI, M. Novel cold sterilization and stabilization process applied to a pale lager. **Journal of Food Engineering**, v. 145, p. 1–9, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2014.08.002>

CIMINI, A.; MORESI, M. Combined enzymatic and crossflow microfiltration process to assure the colloidal stability of beer. **LWT - Food Science and Technology**, v. 90, p. 132–137, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2017.12.008>

CIMINI, A.; MORESI, M. Innovative rough beer conditioning process free from diatomaceous earth and polyvinylpolypyrrolidone. **Foods**, v. 9, n. 9, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/FOODS9091228>

CIMINI, A.; MORESI, M. Circular economy in the brewing chain. **Italian Journal of Food Science**, v. 33, n. 3, p. 47–69, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.15586/ijfs.v33i3.2123>. Acesso em: 28 abr. 2022.

CONIDI, C.; CASTRO-MUÑOZ, R.; CASSANO, A. Nanofiltration in beverage industry. **Nanotechnology in the Beverage Industry**, p. 525–548, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819941-1.00018-3>

COSTA, F. S. F. *et al.* Reuse of Hot Trub as an Active Ingredient with Antioxidant and Antimicrobial Potential. **Waste and Biomass Valorization**, v. 1, p. 3, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01163-6>. Acesso em: 3 set. 2020.

COSTA, F. S. F. C. **ESTUDO DO RESÍDUO GERADO PELA INDÚSTRIA CERVEJEIRA ARTESANAL, trub QUENTE, CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE**. 2017. - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101607>

DE KEUKELEIRC, D. Fundamentals of beer and hop chemistry. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 108–112, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422000000100019>. Acesso em: 13 maio. 2022.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous Optimization of Several Response Variables. <https://doi.org/10.1080/00224065.1980.11980968>, v. 12, n. 4, p. 214–219, 1980. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00224065.1980.11980968>. Acesso em: 16 maio. 2022.

DHOOGHE, L.; NAESSENS, T.; HEYERICK, A.; DE KEUKELEIRE, D.; VLIETINCK, A. J.; PIETERS, L.; APERS, S. Quantification of xanthohumol, isoxanthohumol, 8-prenylnaringenin, and 6-prenylnaringenin in hop extracts and derived capsules using secondary standards. **Talanta**, v. 83, n. 2, p. 448–456, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.09.041>. Acesso em: 23 jul. 2021.

DURELLO, R.; SILVA, L.; BOGUSZ JR., S. Química Do Lúpulo. **Química Nova**, v. 42, n. 8, p. 900–919, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170412>

EDITORS, G.; JAROMÍR KLEMEŠ, J.; YEN LIEW, P.; SHIN HO, W.; SHIUN LIM, J.; YIH LAW, J.; WAHAB MOHAMMAD, A. Separation of Succinate from Organic Acid Salts Using Nanofiltration Membranes. **CHEMICAL ENGINEERING TRANSACTIONS**, v. 59, p. 1705, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3303/CET1756285>. Acesso em: 4 out. 2022.

FĂRCAȘ, A. C.; SOCACI, S. A.; MUDURA, E.; DULF, F. V.; VODNAR, D. C.; TOFANĂ, M.; SALANȚĂ, L. C. Exploitation of Brewing Industry Wastes to Produce Functional Ingredients. **Brewing Technology**, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.69231>. Acesso em: 13 maio. 2022.

FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; PINHO, O.; VIEIRA, E.; TAVARELA, J. G. Brewer's Saccharomyces yeast biomass: characteristics and potential applications. **Trends in Food Science and Technology**, v. 21, n. 2, p. 77–84, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.10.008>

FUCHIMOTO, J. *et al.* Humulone suppresses replication of respiratory syncytial virus and release of IL-8 and RANTES in normal human nasal epithelial cells. **Medical Molecular Morphology**, v. 46, n. 4, p. 203–209, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00795-013-0024-1>. Acesso em: 26 maio. 2021.

GARNIER, C.; GUIGA, W.; LAMELOISE, M. L.; DEGRAND, L.; FARGUES, C. Toward the reduction of water consumption in the vegetable-processing industry through membrane technology: case study of a carrot-processing plant. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 34, p. 42685–42703, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S11356-020-10160-0/TABLES/12>. Acesso em: 4 out. 2022.

GERHÄUSER, C. Phenolic Beer Compounds to Prevent Cancer. **Beer in Health and Disease Prevention**, p. 669–684, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-373891-2.00068-7>

GIL-RAMÍREZ, A.; MENDIOLA, J. A.; ARRANZ, E.; RUÍZ-RODRÍGUEZ, A.; REGLERO, G.; IBÁÑEZ, E.; MARÍN, F. R. Highly isoxanthohumol enriched hop extract obtained by pressurized hot water extraction (PHWE). Chemical and functional characterization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 16, p. 54–60, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.04.006>

GINAK, L. Inovação cervejeira ajuda a reduzir 20% de custo de produção - Geral -

Estadão. Estadão, São Paulo, 2020 Disponível em: <https://pme.estadao.com.br/noticias/geral,inovacao-ervejeira-ajuda-a-reduzir-20-de-custo-de-producao,70003431481>. Acesso em: 13 maio. 2022.

GRUDNIEWSKA, A.; POPŁOŃSKI, J. Simple and green method for the extraction of xanthohumol from spent hops using deep eutectic solvents. **Separation and Purification Technology**, v. 250, p. 117196, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.117196>. Acesso em: 30 ago. 2020.

HABERT, A. C.; BORGES, C. P.; NOBREGA, R. **Processos de separação por membranas PERMEAÇÃO DE GASES**. Rio de Janeiro: Editora E-papers, 2006.

HSU, Y.; KAO, T. Evaluation of prenylflavonoids and hop bitter acids in surplus yeast. **Journal of food science and technology**, v. 56, n. 4, p. 1939–1953, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S13197-019-03660-6>. Acesso em: 23 jul. 2021.

IAL. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. Brasília-DF, v. 4, 2008.

ISTA. International Ruler For Seed Testing The Germination Test. Seed Science and Technology. **International Seed Testing Association**, Zurich, 2008, p. 7. Disponível em: [https://www.scirp.org/\(S\(lz5mqp453edsnp55rrgjct55\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1387561](https://www.scirp.org/(S(lz5mqp453edsnp55rrgjct55))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1387561). Acesso em: 28 jun. 2022.

JIANG, C.; XIE, N.; SUN, T.; MA, W.; ZHANG, B.; LI, W. Xanthohumol inhibits tgf- β 1-induced cardiac fibroblasts activation via mediating pten/akt/ mtor signaling pathway. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 14, p. 5431–5439, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S282206>. Acesso em: 26 maio. 2021.

JURADO, A. J.; SØRENSEN, H. Towards Zero Waste in Beer Production – New Trends for Brewery Solutions. **32nd Asia Pacific Section Convention**, p. 1–5, 2012.

KARABÍN, M.; JELÍNEK, L.; KINČL, T.; HUDCOVÁ, T.; KOTLÍKOVÁ, B.; DOSTÁLEK, P. New approach to the production of xanthohumol-enriched beers. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 119, n. 3, p. 98–102, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/JIB.71>. Acesso em: 21 ago. 2021.

KERBY, C.; VRIESEKOOOP, F. An Overview of the Utilisation of Brewery By-Products as Generated by British Craft Breweries. **Beverages 2017, Vol. 3, Page 24**, v. 3, n. 2, p. 24, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/BEVERAGES3020024>. Acesso em: 1 set. 2022.

KEUKELEIRE, D. D. Química nova, 23(1) (2000) 108. **Fundamentals of Beer and Hop Chemistry**, v. 23, n. 1, p. 108–112, 2000.

KHAW, K. Y.; PARAT, M. O.; SHAW, P. N.; FALCONER, J. R. Solvent supercritical fluid technologies to extract bioactive compounds from natural sources: A review.

Molecules, v. 22, n. 7, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules22071186>

KNAPP, M. A. **Fracionamento de subproduto do processamento de lignina por processos com membranas para obtenção de compostos fenólicos**. 2020. - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA, Florianópolis, SC, 2020.

KOUTSOUKOS, S.; TSIACA, T.; TZANI, A.; ZOUMPOULAKIS, P.; DETSI, A. Choline chloride and tartaric acid, a Natural Deep Eutectic Solvent for the efficient extraction of phenolic and carotenoid compounds. **Journal of Cleaner Production**, v. 241, p. 118384, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118384>

KUMAR, K.; SRIVASTAV, S.; SHARANAGAT, V. S. Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 70, n. September 2020, p. 105325, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105325>

LEGETTE, L.; KARNPRACHA, C.; REED, R. L.; CHOI, J.; BOBE, G.; CHRISTENSEN, J. M.; RODRIGUEZ-PROTEAU, R.; PURNELL, J. Q.; STEVENS, J. F. Human pharmacokinetics of xanthohumol, an antihyperglycemic flavonoid from hops. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 58, n. 2, p. 248–255, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/mnfr.201300333>

LI, H.; ZENG, X.; SHI, W.; ZHANG, H.; HUANG, S.; ZHOU, R.; QIN, X. Recovery and purification of potato proteins from potato starch wastewater by hollow fiber separation membrane integrated process. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 63, p. 102380, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102380>

LIU, M.; YIN, H.; QIAN, X.; DONG, J.; QIAN, Z.; MIAO, J. Xanthohumol, a Prenylated Chalcone from Hops, Inhibits the Viability and Stemness of Doxorubicin-Resistant MCF-7/ADR Cells. **Molecules**, v. 22, n. 1, p. 36, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules22010036>. Acesso em: 26 maio. 2021.

LIU, X.; SONG, Z.; BAI, J.; NAUWYNCK, H.; ZHAO, Y.; JIANG, P. Xanthohumol inhibits PRRSV proliferation and alleviates oxidative stress induced by PRRSV via the Nrf2-HMOX1 axis. **Veterinary Research**, v. 50, n. 1, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13567-019-0679-2>. Acesso em: 10 nov. 2020.

LOUREIRO, P. V.; JIMÉNEZ, I. H.; SENDÓN, R.; DE QUIRÓS, A. R. B.; BARBOSA-PEREIRA, L. Determination of xanthohumol in hops, food supplements and beers by HPLC. **Foods**, v. 8, n. 10, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods8100435>. Acesso em: 26 maio. 2021.

MACHADO, J. C.; FARIA, M. A.; MELO, A.; MARTINS, Z. E.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O. Modeling of α -acids and xanthohumol extraction in dry-hopped beers. **Food Chemistry**, v. 278, n. November 2018, p. 216–222, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.050>

MAGALHÃES, P. J.; DOSTALEK, P.; CRUZ, J. M.; GUIDO, L. F.; BARROS, A. A. The Impact of a Xanthohumol-Enriched Hop Product on the Behavior of Xanthohumol and Isoxanthohumol in Pale and Dark Beers: A Pilot Scale Approach. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 114, n. 3, p. 246–256, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2008.tb00335.x>. Acesso em: 11 nov. 2020.

MAGALHÃES, P. J.; GUIDO, L. F.; CRUZ, J. M.; BARROS, A. A. Analysis of xanthohumol and isoxanthohumol in different hop products by liquid chromatography-diode array detection-electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1150, n. 1–2, p. 295–301, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2006.08.019>

MAIA, I. da costa. **AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE BAGAÇO DE MALTE DE CERVEJARIA ARTESANAL E A INFLUÊNCIA DA FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO**. 2020. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro - UNIRIO, Rio de Janeiro, 2020.

MARIOTTI, F.; TOMÉ, D.; MIRAND, P. P. Converting nitrogen into protein - Beyond 6.25 and Jones' factors. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 2, p. 177–184, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408390701279749>

MARKAKIS, P. Anthocyanins as Foods. p. 280, 1982.

MARSON, G. V.; DE CASTRO, R. J. S.; BELLEVILLE, M. P.; HUBINGER, M. D. Spent brewer's yeast as a source of high added value molecules: a systematic review on its characteristics, processing and potential applications. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 95, p. 1–22, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02866-7>. Acesso em: 9 set. 2020.

MATHIAS, et. al. Characterization and determination of brewer's solid wastes composition. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 121, n. 3, p. 400–404, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jib.229>

MIYATA, S.; INOUE, J.; SHIMIZU, M.; SATO, R. Xanthohumol improves diet-induced obesity and fatty liver by suppressing Sterol Regulatory Element-binding Protein (SREBP) activation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 290, n. 33, p. 20565–20579, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.656975>

MOENS, E.; BOLCA, S.; VAN DE WIELE, T.; VAN LANDSCHOOT, A.; GOEMAN, J. L.; POSSEMIERS, S.; VERSTRAETE, W. Exploration of isoxanthohumol bioconversion from spent hops into 8-prenylnaringenin using resting cells of *Eubacterium limosum*. **AMB Express**, v. 10, n. 1, p. 1–11, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/S13568-020-01015-5/FIGURES/5>. Acesso em: 13 maio. 2022.

MUDURA, E.; COLDEA, T. Hop-Derived Prenylflavonoids and Their Importance in Brewing Technology - A Review. **Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology**, v. 72, n. 1, p. 1–10, 2015.

Disponível em: <https://doi.org/10.15835/BUASVMCN-FST:11198>. Acesso em: 13 maio. 2022.

MUÑOZ, P.; PÉREZ, K.; CASSANO, A.; RUBY-FIGUEROA, R. Recovery of Anthocyanins and Monosaccharides from Grape Marc Extract by Nanofiltration Membranes. **Molecules** **2021**, Vol. **26**, Page **2003**, v. 26, n. 7, p. 2003, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26072003>. Acesso em: 4 out. 2022.

MUSSATTO, S. I. Biotechnological Potential of Brewing Industry By-Products. **Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation: Utilisation of Agro-Residues**, p. 313–326, 2009. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9942-7_16. Acesso em: 13 maio. 2022.

MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C. Chemical characterization and liberation of pentose sugars from brewer's spent grain. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 81, n. 3, p. 268–274, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jctb.1374>. Acesso em: 9 set. 2020.

OCHANDO-PULIDO, J. M.; FRAGOSO, R.; MACEDO, A.; CARVALHO, A. R.; DUARTE, E. Secondary raw materials from agroindustrial by-products and waste through nanofiltration. **Nanofiltration: Applications, Advancements and Research**, p. 67–89, 2017.

OSORIO-PAZ, I.; BRUNAUER, R.; ALAVEZ, S. Beer and its non-alcoholic compounds in health and disease. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 20, p. 3492–3505, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1696278>. Acesso em: 4 dez. 2021.

RAKIN, M.; VUKASINOVIC, M.; SILER-MARINKOVIC, S.; MAKSIMOVIC, M. Contribution of lactic acid fermentation to improved nutritive quality vegetable juices enriched with brewer's yeast autolysate. **Food Chemistry**, v. 100, n. 2, p. 599–602, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2005.09.077>

RECH, K. P. M.; ZORZAN, V. **Aproveitamento de resíduos da indústria cervejeira na elaboração de cupcake**. 2017. - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, Paraná., 2017.

ROCHA, J. de C. G.; PROCÓPIO, F. R.; MENDONÇA, A. C.; VIEIRA, L. M.; PERRONE, Í. T.; DE BARROS, F. A. R.; STRINGHETA, P. C. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from jussara (*Euterpe edulis* M.) and blueberry (*vaccinium myrtillus*) fruits. **Food Science and Technology**, v. 38, n. 1, p. 45–53, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-457x.36316>. Acesso em: 30 ago. 2020.

RODRIGUES, L. M.; ROMANINI, E. B.; SILVA, E.; PILAU, E. J.; DA COSTA, S. C.; MADRONA, G. S. Uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess) residue as a source of antioxidants: An approach to ecofriendly extraction. **LWT**, v. 138, p. 110785, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110785>. Acesso em: 12 abr. 2022.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. Experimental design and process optimization.

Experimental Design and Process Optimization, p. 1–304, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1201/B17848/EXPERIMENTAL-DESIGN-PROCESS-OPTIMIZATION-MARIA-ISABEL-RODRIGUES-ANTONIO-FRANCISCO-IEMMA>. Acesso em: 25 ago. 2022.

RÓJ, E.; TADIĆ, V. M.; MIŠIĆ, D.; ŽIŽOVIĆ, I.; ARSIĆ, I.; DOBRZYŃSKA-INGER, A.; KOSTRZEWA, D. Supercritical carbon dioxide hops extracts with antimicrobial properties. **Open Chemistry**, v. 13, n. 1, p. 1157–1171, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/chem-2015-0131>

RUFINO, M. DO S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. DE; MORAIS, S. M. DE; SAMPAIO, C. DE G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Portal Embrapa**, Fortaleza, CE, v. 127, 2007 a. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/426953/metodologia-cientifica-determinacao-da-atividade-antioxidante-total-em-frutas-pela-captura-do-radical-livre-dpph>. Acesso em: 15 maio. 2022.

RUFINO, M. DO S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. DE; MORAIS, S. M. DE; SAMPAIO, C. DE G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS^{o+}. **Portal Embrapa**, v. 128, 2007 b. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/426954/metodologia-cientifica-determinacao-da-atividade-antioxidante-total-em-frutas-pela-captura-do-radical-livre-abts>. Acesso em: 15 maio. 2022.

RUIZ-RUIZ, J. C.; DEL CARMEN ESAPADAS ALDANA, G.; CRUZ, A. I. C.; SEGURA-CAMPOS, M. R. Antioxidant Activity of Polyphenols Extracted From Hop Used in Craft Beer. **Biotechnological Progress and Beverage Consumption**, v. 19, p. 283–310, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816678-9.00009-6>. Acesso em: 9 jun. 2021.

RYBAK-CHMIELEWSKA, H. Honey. **Chemical and Functional Properties of Food Saccharides**, v. 1, n. Volume 1, p. 73–80, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.7312/seir17116-004>

SAATH, K. C. de O.; FACHINELLO, A. L. Crescimento da demanda mundial de alimentos e restrições do fator terra no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 56, n. 2, p. 195–212, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1234-56781806-94790560201>. Acesso em: 13 maio. 2022.

SÁNCHEZ, R. J.; FIGUEROA PAREDES, D. A.; LAORETANI, D. S.; VILLADA, Y.; FUENTES, M.; ESPINOSA, J. On the conceptual design of the hybrid nanofiltration/distillation process in the production of alcohol-free beers. **Separation and Purification Technology**, v. 267, p. 118625, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.SEPPUR.2021.118625>

SANTOS, C. O.; SILVEIRA, M. R.; SANTOS, A. M.; QUATRIN, A.; AND ?; ROSA, C. S. Resource recovery in the food industry: use in the development of cakes. **International Food Research Journal**, v. 24, n. 5, p. 1941–1947, 2017.

SANZ, V.; TORRES, M. D.; LÓPEZ VILARIÑO, J. M.; DOMÍNGUEZ, H. What is new on the hop extraction? **Trends in Food Science and Technology**, v. 93, p. 12–22, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.018>

SETTE, P.; FERNANDEZ, A.; SORIA, J.; RODRIGUEZ, R.; SALVATORI, D.; MAZZA, G. Integral valorization of fruit waste from wine and cider industries. **Journal of Cleaner Production**, v. 242, p. 118486, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118486>

SILVA, G. V. de A. **COMPOSTOS BIOATIVOS E AVALIAÇÃO CENTESIMAL DA FARINHA DA CASTANHOLA (*Terminalia catappa* Linn.)**. 2018. - UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE, Pombal, PB, 2018.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, 1965.

SIQUEIRA, P. B.; MARIA, H.; BOLINI, A.; MACEDO, G. A. O Processo De Fabricação Da Cerveja E Seus. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, n. 4, p. 491–498, 2008.

STEENACKERS, B.; DE COOMAN, L.; DE VOS, D. Chemical transformations of characteristic hop secondary metabolites in relation to beer properties and the brewing process: A review. **Food Chemistry**, v. 172, p. 742–756, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.139>

STEVENS, J. F.; IVANCIC, M.; HSU, V. L.; DEINZER, M. L. Prenylflavonoids from *Humulus lupulus*. **Phytochemistry**, v. 44, n. 8, p. 1575–1585, 1997. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(96\)00744-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(96)00744-3)

STEVENS, J. F.; PAGE, J. E. Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: To your good health! **Phytochemistry**, v. 65, n. 10, p. 1317–1330, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.04.025>. Acesso em: 11 nov. 2020.

SZWAJGIER, D.; BOROWIEC, K. Phenolic acids from malt are efficient acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 118, n. 1, p. 40–48, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/JIB.5>. Acesso em: 13 maio. 2022.

TADEI, N. S.; SILVA, N. C. C.; IWASE, C. H. T.; ROCHA, L. O. Fusarium mycotoxins in beer production: Characteristics, toxicity, incidence, legislation, and control strategies. **Scientia Agropecuaria**, v. 11, n. 2, p. 247–256, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.17268/SCI.AGROPECU.2020.02.13>

TAPIA-QUIRÓS, P.; MONTENEGRO-LANDÍVAR, M. F.; REIG, M.; VECINO, X.; SAURINA, J.; GRANADOS, M.; CORTINA, J. L. Integration of Nanofiltration and Reverse Osmosis Technologies in Polyphenols Recovery Schemes from Winery and Olive Mill Wastes by Aqueous-Based Processing. **Membranes**, v. 12, n. 3, p. 339, 2022 a. Disponível em:

<https://doi.org/10.3390/membranes12030339>. Acesso em: 12 abr. 2022.

TAPIA-QUIRÓS, P.; MONTENEGRO-LANDÍVAR, M. F.; REIG, M.; VECINO, X.; SAURINA, J.; GRANADOS, M.; CORTINA, J. L. Integration of membrane processes for the recovery and separation of polyphenols from winery and olive mill wastes using green solvent-based processing. **Journal of Environmental Management**, v. 307, p. 114555, 2022 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.114555>. Acesso em: 8 jun. 2022.

TRINDADE, S. C. **Incorporação de amora na elaboração de cerveja artesanal**. 2016. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS, 2016. Disponível em: [http://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/5804/TRINDADE%2C SIMONE CEZAR.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/5804/TRINDADE%2C%20SIMONE%20CEZAR.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

TRONINA, T.; STRUGAŁA, P.; POPŁOŃSKI, J.; WŁOCH, A.; SORDON, S.; BARTMAŃSKA, A.; HUSZCZA, E. The Influence of Glycosylation of Natural and Synthetic Prenylated Flavonoids on Binding to Human Serum Albumin and Inhibition of Cyclooxygenases COX-1 and COX-2. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 22, n. 7, p. 1–20, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules22071230>

TRUJILLO, J. G.; TEIXEIRA, M. A. S.; LIMA, A. H. A.; MONTÃO, D. P.; ROSS, T. B.; RIET-CORREA, G.; CERQUEIRA, V. D.; BEZERRA JÚNIOR, P. S. Ethanol poisoning in cattle fed with malted barley waste with brewer's yeast. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 3, p. 382–386, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5308>

VICENTE DE ANDRADE SILVA, G.; DEMAMAN AREND, G.; ANTONIO FERREIRA ZIELINSKI, A.; DI LUCCIO, M.; AMBROSI, A. Xanthohumol properties and strategies for extraction from hops and brewery residues: A review. **Food Chemistry**, v. 404, p. 134629, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134629>. Acesso em: 24 out. 2022.

VIVIAN, A. F.; AOYAGUI, C. T.; DE OLIVEIRA, D. N.; CATHARINO, R. R. Mass spectrometry for the characterization of brewing process. **Food Research International**, v. 89, p. 281–288, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.008>

WANG, J.; SUN, B.; CAO, Y.; TIAN, Y.; LI, X. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. **Food Chemistry**, v. 106, n. 2, p. 804–810, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.062>

WANG, X.; HO, S.-L.; POON, C.-Y.; YAN, T.; LI, H.-W.; WONG, M. S. Amyloid- β Aggregation Inhibitory and Neuroprotective Effects of Xanthohumol and its Derivatives for Alzheimer's Diseases. **Current Alzheimer Research**, v. 16, n. 9, p. 836–842, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1567205016666190827123222>

WANNENMACHER, J.; GASTL, M.; BECKER, T. Phenolic Substances in Beer: Structural Diversity, Reactive Potential and Relevance for Brewing Process and Beer Quality. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 4, p. 953–988, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12352>. Acesso em: 13 maio. 2022.

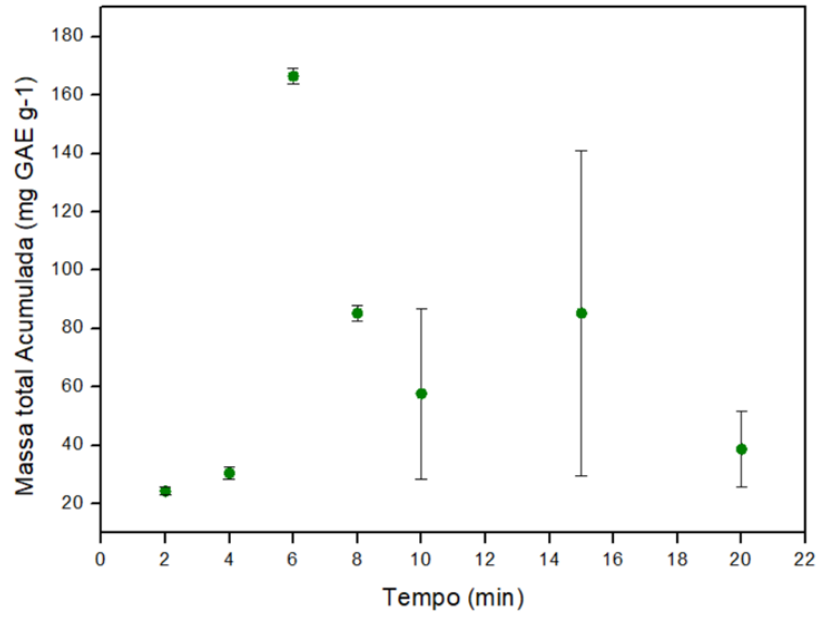
WEISKIRCHEN, R.; MAHLI, A.; WEISKIRCHEN, S.; HELLERBRAND, C. The hop constituent xanthohumol exhibits hepatoprotective effects and inhibits the activation of hepatic stellate cells at different levels. **Frontiers in Physiology**, v. 6, n. MAY, p. 140, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00140>. Acesso em: 11 nov. 2020.

YOSHIMARU, T.; KOMATSU, M.; TASHIRO, E.; IMOTO, M.; OSADA, H.; MIYOSHI, Y.; HONDA, J.; SASA, M.; KATAGIRI, T. Xanthohumol suppresses oestrogen-signalling in breast cancer through the inhibition of BIG3-PHB2 interactions. **Scientific Reports**, v. 4, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep07355>. Acesso em: 11 nov. 2020.

ZENGER, K.; DUTTA, S.; WOLFF, H.; GENTON, M. G.; KRAUS, B. In vitro structure-toxicity relationship of chalcones in human hepatic stellate cells. **Toxicology**, v. 336, p. 26–33, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2015.07.012>

APÊNDICE

Figura A 1 - Cinética de extração assistida por ultrassom dos compostos fenólicos totais da fração sólida do trub quente.



Fonte: Própria autoria