



Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Engenharia de Alimentos

ALINE DUARTE CORRÊA DE BRITO

**EFEITOS DA EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA EM *BLENDS* DE
SUBPRODUTOS DA INDÚSTRIA CERVEJEIRA**

**Campinas
2018**

ALINE DUARTE CORRÊA DE BRITO

**EFEITOS DA EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA EM *BLENDS* DE SUBPRODUTOS
DA INDÚSTRIA CERVEJEIRA**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Engenharia de Alimentos, da
Universidade Estadual de Campinas,
para a obtenção do Título de Mestra em
Tecnologia de Alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Caroline Joy Steel

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA
ALINE DUARTE CORREA DE BRITO E
ORIENTADA PELA PROF.^a DR.^a CAROLINE JOY
STEEL

Campinas

2018

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): CNPq, 131799/2016-9

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5936-9780>

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

B777e Brito, Aline Duarte Correa de, 1990-
Efeitos da extrusão termoplástica em blends de subprodutos da indústria
cervejeira / Aline Duarte Correa de Brito. – Campinas, SP : [s.n.], 2018.

Orientador: Caroline Joy Steel.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade
de Engenharia de Alimentos.

1. Malte. 2. Leveduras. 3. Reaproveitamento (Sobras, refugos, etc.). 4.
Produtos extrudados. 5. Fibra alimentar. 6. Proteínas. I. Steel, Caroline Joy. II.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.
III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Effects of thermoplastic extrusion on blends of brewing by-products

Palavras-chave em inglês:

Malt

Yeasts

Recycling (Waste, etc.)

Extruded products

Dietary fibre

Proteins

Área de concentração: Tecnologia de Alimentos

Titulação: Mestra em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora:

Caroline Joy Steel [Orientador]

Flávio Luís Schmidt

Marcio Schmiele

Data de defesa: 27-03-2018

Programa de Pós-Graduação: Tecnologia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Caroline Joy Steel
Orientadora

Prof. Dr. Flávio Luís Schmidt
Universidade Estadual de Campinas
Membro Titular

Prof. Dr. Marcio Schmiele
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Membro Titular

A ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no processo de vida acadêmica da aluna.

Dedico a todos aqueles que sonharam, que sofreram, mas que não deixaram de sorrir. A todos os pesquisadores, professores e alunos de pós-graduação, que buscam, por meio da pesquisa, fazer um Brasil melhor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que passaram pela minha vida, porque, querendo ou não, contribuíram para formar quem sou. Todo mundo que passa deixa um pouquinho de si e leva um pouquinho de mim, essa troca nos faz crescer e aprender, nos molda a cada dia.

Agradeço à minha família, que por todos esses anos me apoiou, se esforçou para que eu tivesse a melhor formação possível e que eu fosse cada vez mais longe.

Agradeço em especial minha mãe, minha inspiração e meta de vida, a pessoa que eu mais admiro nesse mundo. À minha avó por todo amor, conselhos, risadas e pudins de leite. A meu pai por toda a preocupação, todo o apoio e todas as tabelas. A meu avô por todo carinho, todas as caronas, toda ajuda, todas as ligações. A todos, por todo amor e paciência pelas ausências contínuas.

Agradeço à minha irmã pela ajuda, apoio, compartilhamento de anseios e preocupações. Por conseguir ler mais da metade da minha dissertação tendo que escrever a sua. Por todas as gordices que deixam nossa vida mais alegre e gostosa!

Agradeço aos meus amigos, mas em especial aos do EletroTa, pela grande amizade e por quase 15 anos (Sim!! 15 anos!! Já mais da metade da minha vida) de risadas, choros, mais risadas, músicas, estudos e muito amor.

Agradeço a todos do Laboratório de Cereais, presentes e passados, pelos ensinamentos, pelas amizades, pelas risadas, por fazer as análises parecerem fáceis. Por todos os bolos, presentes e cartões. Amanda 1, Amanda 2, Elisa, Flávio, Gi, Ana, Carla, Mi, Rebeca e suas canções, Ulli, Thaísa, Mária, Gabi, Pri, Matheus, Márcio, Izilda, seu Nilo, obrigada!

Agradeço à Sandra e a Leila por todas as vidrarias lavadas e pelas conversas, que sempre deixaram meu dia mais alegre. Agradeço muito à Sandra por me ensinar o método infalível de tirar argolas dos *shots* da microbiologia.

Agradeço à Izilda por toda dedicação, por tentar fazer tudo ficar perfeito, por organizar a Planta de Extrusão, arrumar um lugar para as minhas coisas e cuidar de todas nós com tanto carinho (e tantos *muffins* e pães de queijo)! Agradeço à Aline e a Ju, pelas horas discutindo análises, resultados, trabalhos e a vida. Por todo suporte que recebi em seus laboratórios.

Agradeço em especial a Ulli, a Thaísa e a Mária, por tudo. Por me ensinar, me apoiar, me ajudar, responder todas as minhas infinitas dúvidas. Pela amizade, pelas risadas, por chopes e queijos, por almoços enormes e deliciosos quando achávamos que não tinha nada pra comer, pelo doce de leite e pelos sorvetes.

Falando em sorvete, não posso deixar de agradecer à Elisa por nos apresentar todas as delícias do Pará. Do sorvete de tapioca ao bombom de cupuaçu!

Agradeço à Aline e à Julie, por sofrerem e sorrirem comigo. Pelas extrusões, tabelas, análises, proteínas, lipídeos, imagem. Obrigada pela dedicação e amizade.

Agradeço a Prof.^a Caroline, minha orientadora, pela dedicação, paciência e incentivo. Por falar com calma quando eu estava em desespero e por achar que tudo era possível. Por todos os ensinamentos, vírgulas, pontos e crases. Agradeço também à Prof.^a Maria Teresa, por todas as dicas e sugestões.

Por fim, agradeço à banca pelas correções e sugestões para meu trabalho e a empresa doadora dos subprodutos e da ideia inicial por fazer esse projeto possível.

Obrigada!

RESUMO

A reutilização de resíduos agroindustriais atrai cada vez mais a atenção de pesquisadores, pois subprodutos são uma fonte barata de fibras, proteínas e compostos bioativos, apesar de sua composição heterogênea e instabilidade microbiológica. A indústria cervejeira gera bilhões de toneladas de subprodutos anualmente, entre os quais, em maior quantidade, o resíduo úmido de cervejaria (RUC), composto principalmente por bagaço de malte, apresentando, em base seca, em torno de 58% de fibras dietéticas insolúveis (FDI), 18% de proteínas e 14% de lipídeos; e o excesso de levedura (LEV), contendo 53% de proteínas, 20% de fibras dietéticas totais (FDT) e 7% de minerais. Entretanto, ambos apresentam alta umidade, 78% e 86%, respectivamente, implicando em difícil manipulação e transporte, além de rápida deterioração. Gerado em menor quantidade, porém com baixa umidade, o pó de malte (PDM) é formado por, aproximadamente, 65% de carboidratos, 15% de proteínas e 14% de FDI, mas sua alta carga microbiana resultou em restrição no uso. Entre as técnicas exploradas para reutilização de resíduos agroindustriais, a extrusão termoplástica mostra grandes vantagens, pois permite a utilização do subproduto como um todo, aliando calor, pressão e cisalhamento, sem gerar novos resíduos. Entre suas limitações estão umidade e tamanho de partículas da matéria-prima. Decidiu-se utilizar um Delineamento de Misturas para compor *blends* dos subprodutos, com uma umidade máxima de 30% para o ponto centroide, explorando-se duas alternativas: Delineamento A – secagem do RUC e composição de *blends* com RUCseco, LEV e *grits* de milho; Delineamento B – *blends* com RUC, LEV e PDM, aliados a 55% de pó de arroz (PDA), subproduto do processamento de saquê, contendo 65% de carboidratos e 18% de proteínas. Os parâmetros de processo foram fixados em: velocidade de alimentação 250 rpm; velocidade da rosca 390 rpm; temperatura das zonas, da alimentação à matriz, 45-60-80-110°C. Os extrusados do Delineamento A apresentaram altas umidades, durezas e densidades, baixos índices de expansão (IE), solubilidade em água (ISA) e absorção de água (IAA), fenômenos atribuídos à alta quantidade de fibras insolúveis do RUCseco. Os extrusados do Delineamento B apresentaram maiores IE e ISA, menores durezas e densidades, porém teor proteico similar ao do Delineamento A, características atribuídas à alta proporção de PDA. A otimização dos produtos visou menor umidade e melhores propriedades tecnológicas. Restauração de peças da extrusora levou ao aumento da energia mecânica (EME) do sistema, influenciando as propriedades tecnológicas dos produtos otimizados. Estes foram analisados quanto à sua composição centesimal, incluindo FDT e FDI; à digestibilidade *in vitro* de proteínas (DIVP); aos parâmetros tecnológicos: atividade de água, IE, densidade aparente, dureza instrumental, cor instrumental (CIELab), ISA e IAA, e propriedades de pasta (RVA); e à qualidade microbiológica. Os otimizados A revelaram alto conteúdo de FDI e lipídeos, o que regeu suas propriedades tecnológicas, produzindo extrusados com estrutura frágil e oca. Os otimizados B exibiram alto IE e baixa dureza, porém resultados com alto coeficiente de variação, associados à heterogeneidade do PDM. Conclui-se que é possível utilizar extrusão termoplástica para transformação de subprodutos agroindustriais em novos produtos ou ingredientes, com diferentes propriedades tecnológicas e nutricionais, para alimentação humana ou animal.

Palavras-chave: malte, leveduras, reaproveitamento (sobras, refugos, etc.), produtos extrudados, fibra alimentar, proteínas.

ABSTRACT

The recovery of agroindustrial wastes is increasingly attracting the attention of researchers, since by-products are an inexpensive source of fibres, proteins and various bioactive compounds, despite their heterogeneous composition and microbiological instability. The brewery industry produces billions of tons of by-products each year, including, in greater quantity, brewer's spent grain (BSG), mainly composed of malt bagasse, providing, on a dry basis, about 58% insoluble dietary fibres (IDF), 18% proteins and 14% lipids; and brewer's spent yeast (BSY), containing 53% proteins, 20% total dietary fibres (TDF) and 7% of minerals. However, both have a high moisture content, 78% and 86%, respectively, implying difficult handling and transportation, and rapid deterioration. Generated in smaller quantities but with low moisture content, malt powder (MP) is comprised of approximately 65% carbohydrates, 15% proteins and 14% IDF, however, its high microbial load implied usage restrictions. Among the techniques used to recycle agroindustrial waste, thermoplastic extrusion shows great advantages, as it allows the use of the by-products as a whole, combining heat, pressure and shear, without generating residues. Among its limitations are feed moisture and particle size. It was decided to use a Mixture Design to compose blends of by-products, with a maximum moisture of 30% for the centroid point, exploring two alternatives: Design A – drying of BSG and blends composition with dryBSG, BSY and corn grits; Design B – blends with BSG, BSY and MP, allied to 55% rice powder (RP), a by-product from *sake* processing, with 65% carbohydrates and 18% proteins. The process parameters were set at: feed rate 250 rpm; screw speed 390 rpm; temperature of the zones, from the feed hopper to the die, 45-60-80-110°C. The extruded products from Design A presented high moisture content, hardness and density, low indices of expansion (EI), water solubility (WSI) and water absorption (WAI), phenomena attributed to the high amount of insoluble dryBSG fibres. The extruded products of Design B, presented higher EI and WSI, lower hardness and densities, but a similar protein content to that of Design A, characteristics attributed to a high proportion of RP. The optimization of the products aimed at lower moisture and better technological properties. Restoration of extruder parts led to the increase in mechanical energy (SME) of the system, influencing the technological properties of the optimized products. They were analysed regarding their proximate composition, including TDF and IDF; their protein *in vitro* digestibility (PIVD); their technological parameters: water activity, EI, apparent density, instrumental hardness, instrumental colour (CIELab), WSI and WAI, and pasting properties (RVA); and their microbiological quality. The optimized A extrudates revealed high content of insoluble fibres and lipids, which governed its technological properties, producing brittle, hollow extruded products. The optimized B extrudates showed high EI and low hardness, but a high coefficient of variation for the results, associated to the heterogeneity of the MP. In conclusion, it is possible to apply thermoplastic extrusion for transformation of agroindustrial by-products into new products or ingredients with different technological and nutritional properties, for human or animal feeding.

Keywords: malt, yeasts, recycling (waste, etc.), extruded products, dietary fibre, proteins.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentrações reais e L-pseudocomponentes do simplex-centroide, com 3 componentes - Delineamento A	37
Tabela 2 - Concentrações reais e L-pseudocomponentes do delineamento axial normal, com 3 componentes - Delineamento B.....	39
Tabela 3 - Composição centesimal, em base seca, umidade e atividade de água das matérias-primas	45
Tabela 4 - Resultado das análises microbiológicas das matérias-primas	48
Tabela 5 - Umidade dos <i>blends</i> , umidade, atividade de água, teor proteico e vazão de alimentação dos produtos extrusados seguindo o delineamento de misturas.....	52
Tabela 6 - Propriedades tecnológicas dos produtos extrusados seguindo o delineamento de misturas.....	55
Tabela 7 - Coeficientes da regressão PLS para os termos dos modelos de cada resposta e outros dados estatísticos	58
Tabela 8 - Critérios para a otimização.....	64
Tabela 9 - <i>Setpoint</i> escolhido a partir da otimização do Delineamento A	65
Tabela 10 - Valores de resposta preditos para o <i>setpoint</i> escolhido.....	65
Tabela 11 - Parâmetros de extrusão – Otimizados A	66
Tabela 12 - Valores preditos e reais das respostas utilizadas na otimização.....	66
Tabela 13 - Valores obtidos e estimados para a composição centesimal dos extrusados	68
Tabela 14 - Parâmetros tecnológicos dos produtos otimizados.....	70
Tabela 15 - Propriedades de pasta dos <i>blends</i> e dos extrusados.....	72
Tabela 16 - Digestibilidade <i>in vitro</i> de proteínas (g/100g).....	74
Tabela 17 - Valores de umidade dos <i>blends</i> , umidade e atividade de água dos extrusados úmidos e secos, e teor proteico dos extrusados	78
Tabela 18 - Coeficientes da regressão PLS e outros parâmetros estatísticos	82
Tabela 19 - Parâmetros tecnológicos dos extrusados	83
Tabela 20 - Critérios para a otimização.....	86
Tabela 21 - <i>Setpoint</i> escolhido a partir da otimização.....	86
Tabela 22 - Valores de resposta preditos para o <i>setpoint</i> escolhido.....	86
Tabela 23 - Parâmetros de extrusão.....	87
Tabela 24 - Valores preditos e reais das respostas utilizadas na otimização.....	88

Tabela 25 - Valores obtidos e estimados para a composição centesimal dos extrusados	89
Tabela 26 - Parâmetros tecnológicos dos produtos otimizados.....	91
Tabela 27 - Propriedades de pasta dos extrusados otimizados.....	92
Tabela 28 - Digestibilidade <i>in vitro</i> de proteínas (DIVP)	95
Tabela 29 - Resultado das análises microbiológicas dos <i>blends</i> e produtos extrusados úmidos e secos.....	96

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Limites inferiores de adição dos componentes das misturas do Delineamento A...	36
Figura 2 - Limites inferiores de adição dos componentes das misturas do Delineamento B, mantendo-se fixo PDA em 55% do total do <i>blend</i>	36
Figura 3 - Delineamento simplex-centroide modificado, com 3 (três) componentes, utilizado no Delineamento A	37
Figura 4 - Delineamento axial normal, com 3 (três) componentes, utilizado para o Delineamento B	38
Figura 5 - Extrusados dispostos sobre o simplex do delineamento de misturas A.....	52
Figura 6 - Coeficientes de regressão do modelo de umidade dos <i>blends</i> com seus desvios padrões e gráfico de contorno da superfície de resposta da <i>Ublend</i>	59
Figura 7 - Coeficientes de regressão do modelo da umidade dos extrusados úmidos com seus desvios padrões e gráfico de contorno da superfície de resposta	59
Figura 8 - Coeficientes de regressão do modelo de teor proteico com seus desvios padrões (a) e gráfico de contorno da superfície de resposta (b)	60
Figura 9 - Coeficientes de regressão do modelo de vazão de alimentação com seus desvios padrões e gráfico de contorno da superfície de resposta	61
Figura 10 - Coeficientes de regressão do modelo de IE com seus desvios padrões (a) e gráfico de contorno da superfície de resposta (b)	62
Figura 11 - Coeficientes de regressão do modelo de densidade aparente com seus desvios padrões e gráfico de contorno da superfície de resposta	63
Figura 12 - Coeficientes de regressão do modelo de dureza com seus desvios padrões (a) e gráfico de contorno da superfície de resposta (b).....	64
Figura 13 - Fotografia dos extrusados otimizados – Delineamento A	67
Figura 14 - Imagem da secção transversal dos extrusados – Delineamento A.....	68
Figura 15 - Propriedades de pasta dos produtos otimizados: a) <i>blends</i> ; b) extrusados	73
Figura 16 - Extrusados correspondentes a cada ponto do delineamento de misturas B.....	77
Figura 17 - Coeficientes de regressão PLS para umidade dos <i>blends</i> (<i>Ublend</i>) com seus respectivos desvios padrões (a) e gráfico de contorno da superfície de resposta (b).	79
Figura 18 - Coeficientes de regressão PLS para umidade dos extrusados úmidos (<i>Uúmido</i>) com seus respectivos desvios padrões (a) e gráfico de contorno da superfície de resposta (b).	80

Figura 19 - Coeficientes de regressão PLS para umidade dos extrusados secos (Usecos) com seus respectivos desvios padrões (a) e gráfico de contorno da superfície de resposta (b).	80
Figura 20 - Coeficientes de regressão PLS para atividade de água dos extrusados úmidos com seus respectivos desvios padrões (a) e gráfico de contorno da superfície de resposta (b).	81
Figura 21 - Gráfico de Importância das Variáveis (VIP)	85
Figura 22 - Extrusados otimizados do Delineamento B	87
Figura 23 - Imagem da seção transversal dos extrusados.....	89
Figura 24 - Perfil de viscosidade de pasta dos <i>blends</i> (a) e dos extrusados Otimizados B (b e c), onde (a) e (b) apresentam escala de viscosidade de 0 a 1200 cP e (c) de 0 a 180 cP.....	94
Figura 25 - Matriz de correlação – Delineamento A	117
Figura 26 - Matriz de correlação – Delineamento B	118

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	15
2	OBJETIVOS.....	17
	2.1 Objetivo Geral.....	17
	2.2 Objetivos Específicos.....	17
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
	3.1 Cerveja e Mercado	18
	3.2 Processo Produtivo e Geração de Subprodutos.....	19
	3.2.1 Subprodutos e sua Reutilização – o Estado da Arte.....	23
	3.3 Extrusão Termoplástica	26
	3.3.1 O Processo de Extrusão	26
	3.3.2 Efeito das Matérias-Primas	28
	3.3.3 Estudos com Incorporação de RUC	29
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	32
	4.1 Material	32
	4.2 Métodos.....	32
	4.2.1 Caracterização das Matérias-Primas	34
	4.2.2 Planejamento Experimental de Misturas.....	36
	4.2.3 Processo de Extrusão	39
	4.2.4 Caracterização dos Produtos Extrusados	40
	4.2.5 Análise Estatística	43
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
	5.1 Caracterização das Matérias-Primas	45
	5.1.1 Composição Centesimal.....	45
	5.1.2 Análises Microbiológicas.....	47
	5.2 Caracterização dos Produtos Extrusados	50
	5.2.1 Delineamento A	50

5.2.2	Delineamento B	75
5.2.3	Análises Microbiológicas.....	96
5.3	Discussão Geral	99
6	CONCLUSÕES	104
7	REFERÊNCIAS	107
	APÊNDICE 1 – MATRIZ DE CORRELAÇÃO DELINEAMENTO A	117
	APÊNDICE 2 – MATRIZ DE CORRELAÇÃO DELINEAMENTO B	118

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os temas “meio ambiente” e “sustentabilidade” têm estado cada vez mais em evidência diante da crescente preocupação com as mudanças climáticas ocorridas no planeta e suas implicações sobre a oferta de alimentos. Práticas como a geração e disposição de resíduos industriais, uso de agrotóxicos, combustíveis fósseis e compostos halogênicos, etc., têm sido alvo de críticas por ambientalistas, cientistas e pela comunidade, que está cada vez mais consciente e atenta.

Como consequência, e para minimizar futuros danos sobre o meio ambiente, vários países estão implementando mudanças em sua legislação, incentivando pesquisas por práticas alternativas e técnicas que envolvam a otimização de processos, menor uso de energia, menor geração de resíduos, maiores índices de reciclagem e reutilização de materiais e subprodutos, substituição de combustíveis fósseis por combustíveis alternativos, etc., como forma de alcançar um desenvolvimento sustentável.

Muitos esforços têm sido empregados em estudos sobre a reutilização de resíduos agroindustriais, que se mostra como uma alternativa de grande interesse em um cenário em que se tenta balancear a geração e disposição de resíduos domésticos e industriais, a proeminente escassez de recursos naturais e o desbalanço nutricional da população.

A agroindústria mundial gera enormes quantidades de resíduos anualmente, inclusive, e com grande destaque, a indústria cervejeira. Esses resíduos contêm, no entanto, quantidades significativas de componentes potencialmente valiosos, se explorados, mas que são ignorados pelos processos existentes, principalmente quando consideradas micro e pequenas empresas. Em sua maioria, resíduos agroindustriais são vendidos a preços baixos e utilizados como ração animal (REPRO, 2008).

Uma diversidade de nutrientes poderia ser introduzida ou reinseridas à cadeia de alimentos através de processos específicos, aumentando a oferta de alimentos com a utilização de matérias-primas de baixo custo, enquanto compostos lignocelulósicos, como casca e bagaço de malte e outros grãos, poderiam ser explorados na produção de biodiesel, evitando-se o problema de competição no campo entre cultivos para produção de alimentos ou para produção de biodiesel (REPRO, 2008).

Dentre os resíduos orgânicos gerados pela indústria cervejeira, em maior quantidade estão o bagaço de malte, ou resíduo úmido de cervejaria (RUC), e a levedura excedente (LEV), fontes de fibras e proteínas e de vários compostos bioativos, como β -glucana e compostos fenólicos. Ambos saem do processo com uma umidade acima de 75% e

precisariam passar por algum tratamento para estabilização, dentro da própria cervejaria, antes de serem enviados para o local de processamento – a menos que o novo processamento fosse feito nesse local.

Entre as técnicas mais exploradas para a utilização de subprodutos agroindustriais, tem-se a extração de seus componentes, como micro e macronutrientes, agentes geleificantes e hidrocolóides, frações de fibras, compostos bioativos, etc.. Porém, apesar de gerar produtos de alto valor agregado, essa técnica não utiliza o subproduto por inteiro, gerando novos subprodutos, em quantidade reduzida (REPRO, 2008).

Por esse motivo, há uma demanda por processos economicamente viáveis que utilizem os subprodutos por inteiro e em grandes volumes. A extrusão termoplástica é uma técnica que combina altas taxas de cisalhamento, temperatura e pressão para provocar transformações nas matérias-primas, resultando em produtos com diferentes formas e texturas, dependendo das condições de processo e da composição dos ingredientes utilizados. Pode ser utilizada para grandes volumes de produção, tem alta produtividade, é econômica e não gera novos resíduos, apresentando grande potencial na reutilização de resíduos agroindustriais.

A utilização da extrusão termoplástica para produção de *snacks* expandidos, contendo de 10 a 30% de RUC seco em estufa ou liofilizado, foi estudada por diversos autores (AINSWORTH et al., 2007; STOJCESKA et al., 2008, STOJCESKA et al., 2009; MAKOWSKA et al., 2013; KIRJORANTA et al., 2016; NASCIMENTO, CALADO e CARVALHO, 2017; SOBUKOLA et al., 2013). Porém, faltam estudos com maiores adições de RUC, sua utilização *in natura* e com a utilização de outros subprodutos da indústria cervejeira.

Esse projeto teve por objetivo explorar a utilização da extrusão termoplástica na transformação de subprodutos da indústria cervejeira em novos produtos ou ingredientes com menor umidade, maior facilidade no transporte e maior valor agregado, para alimentação humana ou animal.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estudar os efeitos da extrusão termoplástica sobre *blends* de subprodutos da indústria cervejeira, visando à obtenção de produtos com menor umidade, maior facilidade no transporte e maior valor agregado, em relação aos subprodutos.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar a matéria-prima quanto à sua composição centesimal e qualidade microbiológica;
- Definir os componentes dos *blends* e seus respectivos limites máximos e mínimos para composição do Delineamento de Misturas;
- Definir os ingredientes amiláceos de baixa umidade a serem testados em cada delineamento e fixar a quantidade mínima necessária para obtenção de *blends* possíveis de serem extrusados;
- Definir os parâmetros de extrusão a partir de dados da literatura e de testes preliminares;
- Processar os *blends* por extrusão termoplástica;
- Estudar os efeitos das diferentes composições dos *blends* nas características dos produtos extrusados;
- Definir *blends* otimizados, visando maior conservação do produto final e propriedades tecnológicas de interesse;
- Avaliar as características nutricionais, tecnológicas e microbiológicas dos produtos otimizados.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Cerveja e Mercado

Cerveja, segundo a Instrução Normativa nº 54, de 5 de novembro de 2001, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que adota o Regulamento Técnico MERCOSUL de produtos de cervejaria, é “a bebida resultante da fermentação, mediante levedura cervejeira, do mosto de cevada maltada ou do extrato de malte, submetido previamente a um processo de cocção, adicionado de lúpulo”. A mesma determina ainda que “uma parte da cevada maltada ou do extrato de malte poderá ser substituída por adjuntos cervejeiros”, em porcentagem máxima de 45% em relação ao extrato primitivo. São considerados “adjuntos cervejeiros, a cevada cervejeira e os cereais, maltados ou não-maltados, aptos para o consumo humano”, excluindo o próprio malte de cevada e o extrato de malte, além de amido e açúcares de origem vegetal. Os últimos, quando não provenientes de cereais, devem estar presentes em quantidade máxima de 10% na cerveja clara ou 25% na cerveja escura (BRASIL, 2001b).

A cerveja, terceira bebida mais consumida no mundo (IBOPE, 2013; CISA, 2015; STATISTA, 2016), teve um aumento consecutivo em sua produção mundial de 1992 a 2013, quando foram produzidos 1972 milhões de hectolitros. O aumento, de 2003 a 2013, foi 36%. Desde então, a produção vem caindo ligeiramente ano após ano: 1.962 milhões de hL em 2014, 1.961 milhões de hL em 2015 e 1.957 milhões de hL em 2016. O Brasil, terceiro maior produtor mundial de cerveja, atrás de China e EUA, produziu, em 2016, 133 milhões de hL, o que corresponde a uma queda de 3,77% em relação ao ano anterior (KIRIN HOLDINGS, 2012; BARTH HAAS GROUP, 2015, 2017). De 2004 a 2014, a produção nacional teve um aumento de 58% em litros, o que significou um aumento de 3,5 vezes em milhões de dólares (SICOBÉ, 2015).

O aumento na produção de cerveja nesses últimos anos indica também um aumento na produção de efluentes e resíduos decorrentes do processo de produção da mesma. De acordo com Santos (2007), uma cervejaria que produz anualmente 10^6 hL de cerveja, gera em um ano 125 toneladas de pó e cascas de malte (PDM), 2000 toneladas de terra diatomácea usada, 2500 toneladas de levedura adicional (LEV) e 10000 toneladas de grãos usados (definidos neste trabalho como resíduo úmido de cervejaria ou RUC). Além disso, geram-se 3-6 hectolitros de efluentes líquidos por hectolitro de cerveja produzido. Esses efluentes e

resíduos orgânicos têm alto potencial de poluição por possuírem uma alta demanda biológica por oxigênio (DBO) e conterem fósforo e nitrogênio.

Porém, os dados referentes aos resíduos gerados em cervejarias são controversos, pois variam de acordo com o processo empregado por cada cervejaria. Santos (2005) cita outros dois estudos em sua obra, um realizado pela Agência de meio ambiente canadense (CANADA, 1997) e outro pelo Programa de Meio Ambiente das Nações Unidas (UNEP, 1996) na França. O primeiro indica que, em uma planta de 170.000 hL cerveja/mês, cada hectolitro de cerveja produzido gera 20 kg de RUC, 3 L de levedura adicional, 0,6 L de terra diatomácea e 0,125 kg de pó de malte. Já o segundo indica a geração de 14 kg de RUC, a 80% de umidade, ou 125-130 kg RUC a cada 100 kg de malte utilizado e 2-4 kg de levedura adicional a 10-15% de umidade.

Dessa forma, se aplicarmos os dados de Santos (2005), teremos produzido no Brasil, em 2016, 1333 mil toneladas de RUC, 333 mil toneladas de excesso de levedura e 17 mil de toneladas de pó de malte. Os resíduos sólidos orgânicos normalmente são destinados à alimentação animal; porém, devido à alta umidade do RUC e da LEV, estes deveriam, preferencialmente, passar por um processo de redução de umidade ou secagem antes de saírem da cervejaria. O RUC é um produto altamente perecível e, a não ser que tenha uma destinação rápida, torna-se um problema para a cervejaria. Por ter um preço de venda muito baixo, muitas cervejarias menores optam por simplesmente descartá-los sem nenhum tratamento.

Com o intuito de aumentar o valor agregado dos subprodutos da indústria cervejeira e, assim, incentivar a sua reutilização, diversos estudos, mencionados no decorrer deste projeto, vêm tentando incorporá-los em produtos de alimentação humana ou de alimentação animal com alto valor agregado, ou então, utilizá-los em processos biotecnológicos para a extração de compostos, fermentação e/ou geração de energia.

3.2 Processo Produtivo e Geração de Subprodutos

A cerveja é produzida a partir de quatro ingredientes básicos: água, malte de cevada, lúpulo e levedura. As cervejas padrão ou “*mainstream*”, tipicamente consumidas no Brasil, levam ainda em sua composição cereais não maltados, como arroz ou *grits* de milho, ou carboidratos de origem vegetal, como amidos ou açúcares, em quantidade não superior a 45% do extrato primitivo. É também permitida pela legislação brasileira a adição de estabilizantes e antioxidantes à cerveja (BRASIL, 2001b; BRASIL, 2011).

A primeira etapa do processo de fabricação de cerveja é a maltagem dos grãos de cevada. A cevada é uma gramínea da família *Hordeum vulgare*. Dentre as diversas variedades da planta, apenas algumas são apropriadas para a maltagem e fabricação de cerveja. Uma cevada cervejeira de qualidade deve apresentar: espiga pendente, alta pureza varietal, casca fina e grãos bojudos. Deve ainda possuir um alto rendimento, ou seja, após a maltagem, produzir um mosto com alto teor de extrato (PRIEST; STEWART, 2006; CARDOSO, 2007; KUNZE, 2006). Sua composição engloba 55-65% de amido, 9,5-11,5% de proteínas, 3,5-7% de celulose, 2,5-3,5% de minerais, 2-3% de substâncias graxas e aproximadamente 10% de hemicelulose, dentre as quais, 80-90% de β -glucanas e 10-20% de pentosanas (PRIEST; STEWART, 2006; CARDOSO, 2007; KUNZE, 2006).

A maltagem pode ser conduzida em uma maltaria ou na própria cervejaria e consiste em três processos principais: condicionamento dos grãos, germinação e secagem. Os grãos de cevada chegam à indústria com umidade inferior a 12% e, após processos de limpeza e seleção, são embebidos em água para dar início à germinação. O processo de germinação dura em torno de 5 dias e é interrompido quando são alcançados os desejados graus de modificação e de atividade enzimática. O grão passa então por uma secagem controlada, para sua estabilização e para criação de compostos de cor, aroma e sabor; diferentes binômios de tempo e temperatura vão dar origem a maltes com diferentes graus de torração (PRIEST; STEWART, 2006).

O malte é enviado à cervejaria em caminhões e armazenado em silos até o momento de ser utilizado. Todas as etapas de transporte, ensilagem e armazenamento dos grãos de cevada ou de malte devem ser conectadas a um sistema de aspiração de pós. Pós são higroscópicos e se tornam atraentes para insetos e microrganismos, por perfazerem uma matriz de fácil acesso a nutrientes; causam alergias e infecções pulmonares quando inalados; e formam misturas explosivas com ar, sendo os responsáveis por grandes explosões em indústrias de açúcar, por exemplo. Pós e cascas são coletados em filtros manga e são, normalmente, destinados à alimentação animal, agregados a outros subprodutos (BRIGGS, 2004).

O malte passa por um processo de moagem, sendo reduzido a *grits* de diferentes granulometrias, dependendo das próximas fases do processo; o uso de tinas de clarificação exige malte com *grits* de maior granulometria, enquanto o filtro prensa trabalha bem com partículas mais finas.

A próxima etapa na fabricação de cerveja é a mostura, na qual o malte é misturado com água e submetido a um processo de aquecimento controlado para otimizar a atuação de enzimas amilolíticas e proteolíticas, de forma a obter-se o extrato de malte, ou mosto, com alta quantidade de açúcares fermentescíveis. Resultam deste processo o mosto, parte líquida, constituído de compostos solúveis ou em suspensão, e o bagaço de malte ou resíduo úmido de cervejaria (RUC), material lignocelulósico composto basicamente da casca do malte e outros materiais insolúveis do grão ou provenientes de adjuntos (PRIEST; STEWART, 2006).

Ambos são bombeados do tanque de mostura para um filtro prensa ou uma tina de clarificação, onde o próprio bagaço formará uma camada filtrante para o mosto. O objetivo desta etapa é separar as substâncias solubilizadas durante a mostura (o extrato) das insolúveis que formam o bagaço, procurando obter-se um mosto com um mínimo de turbidez e alcançando-se um alto rendimento de extrato. Após a circulação do mosto, o qual é bombeado para o tanque de fervura, realiza-se a lavagem do bagaço de malte com água para recuperação de compostos, até a gravidade de interesse (PRIEST; STEWART, 2006). O bagaço de malte pode ser conduzido para etapas de prensagem e/ou secagem, para diminuir sua umidade, podendo ser vendido como Resíduo Seco de Cervejaria (RSC), ou seguir sem nenhum tratamento para tanques de armazenamento e expedição.

Após a clarificação, o mosto é conduzido à tina de fervura, onde será levado à ebulição e será adicionado de lúpulo. Durante a fervura, ocorrem alguns processos muito importantes para a qualidade final da cerveja: esterilização do líquido, extração dos compostos de amargor do lúpulo e formação de iso- α -ácidos, extração dos compostos aromáticos do lúpulo, coagulação do excesso de proteínas e taninos formando o *trub*, formação de cor e aroma, volatilização de compostos indesejáveis e concentração de açúcares por evaporação de água (PRIEST; STEWART, 2006).

Após a fervura, ocorre a separação do *trub*, o qual pode ser adicionado ao bagaço de malte ou ser descartado separadamente. O mosto é resfriado à temperatura de fermentação e inoculado com levedura cervejeira, geralmente *Saccharomyces carlsbergensis* para cervejas tipo *lager*, que fermentam a baixas temperaturas (8-15°C), ou alguma cepa de *Saccharomyces cerevisiae* para cervejas tipo *ale*, que fermentam a temperaturas mais altas (16-25°C) (FERREIRA, 2010). A levedura usa açúcares e proteínas e produz álcool, CO₂ e compostos aromáticos, além de gerar novas células. Durante o processo de fermentação, a massa de levedura aumenta de 2 a 4 vezes, dependendo das condições de processo e do tipo de levedura

utilizada, e o excesso de fermento é recolhido ao final da fermentação pelo fundo do tanque como biomassa de levedura cervejeira, de modo a obter-se uma cerveja clara e saborosa.

O processo de maturação, iniciado após a separação da cerveja do excesso de levedura, pode ser iniciado a temperaturas em torno de 8°C para que a levedura restante no líquido absorva o excesso de diacetil produzido na fermentação. Segue-se a maturação a baixas temperaturas, ou armazenamento a frio, durante o qual são formados complexos de polifenóis com polipeptídios – *chill haze*, e é decantada a levedura residual; ambos são recolhidos do fundo do tanque de maturação ao final deste processo e adicionados ao excesso de levedura do tanque de fermentação (FERREIRA, 2010; HUIGE, 2006).

A levedura pode ser reutilizada várias vezes no processo (normalmente de 4 a 6 vezes), mesmo assim, o excesso de levedo (LEV) representa o segundo maior volume de subproduto da indústria cervejeira, sendo produzidos em uma fermentação *lager* cerca de 1,7 a 2,3 kg LEV/m³ de produto final (FERREIRA, 2010; HUIGE, 2006). Este subproduto apresenta em torno de 14% de sólidos, entre sólidos de levedura, de *trub* e de cerveja. Em geral, uma parte do excesso de levedura retorna ao processo e outra parte é vendida à indústria alimentícia ou para alimentação animal. Se descartada no esgoto comum, representa um sério problema ambiental devido à sua alta DBO (HUIGE, 2006).

A cerveja maturada segue para a clarificação, usualmente realizada em filtros com terra diatomácea, um material mineral não metálico, formado por esqueletos de algas unicelulares. O descarte desse material, terceiro em volume na indústria de cerveja, representa um problema muito sério para o meio ambiente, devido a seu alto efeito poluente e, além disso, é considerado um resíduo perigoso pela organização mundial da saúde, que considera sílica cristalina como causa de doenças de pulmão (FILLAUDEAU et al., 2006; MARTINOVIC et al., 2006).

Depois de clarificada, a cerveja segue para gaseificação, envase, armazenamento e distribuição.

3.2.1 Subprodutos e sua Reutilização – o Estado da Arte

3.2.1.1 Pó de Malte

Pó de malte representa apenas 0,8% de todos os resíduos sólidos produzidos na indústria de cerveja (SANTOS, 2005). Existem poucos estudos sobre a utilização deste resíduo, uma vez que ele é usualmente adicionado ao bagaço de malte e outros resíduos, formando o resíduo úmido de cervejaria (RUC). Carvalho et al. (2012) fizeram um estudo comparativo com três resíduos agroindustriais (casca de soja, quirera de arroz e pó de malte) na alimentação de cordeiros e não encontraram diferenças significativas nas carcaças. Já em outro estudo, Carvalho et al. (2016) avaliaram a economicidade e o desempenho produtivo de cordeiros alimentados com dietas contendo 30% em base seca dos mesmos resíduos industriais, concluindo que a utilização de pó de malte na dieta é economicamente vantajosa em relação à quirera de arroz e casca de soja.

3.2.1.2 Bagaço de Malte

A composição centesimal do RUC depende de diversos fatores como: variedade da cevada e tempo de colheita da mesma; nível de adição de outros subprodutos da indústria; tipo de malte utilizado; tipo e quantidade de adição de adjuntos; condições de maltagem e brassagem; grau de lavagem do resíduo ao final da clarificação e grau de desidratação do mesmo (CANADA, 1997; MUSSATTO, 2006; FERRINHO, 2013; HUIGE, 2006). Em média o RUC sai da tina de clarificação com uma umidade de 75-81%, e uma matéria seca correspondente a 70% de fibras e 20% de proteínas (MUSSATTO, 2006; HUIGE, 2006). Uma composição média, segundo o relatório final da REPRO (2008), é de aproximadamente 40% polissacarídeos, 20% proteínas e 15% lignina.

A destinação mais frequente do bagaço é para alimentação animal, principalmente de bovinos, e vários estudos indicam que o material rico em fibras, proteínas e minerais pode ser usado em substituição ao concentrado em ração de bovinos, vacas leiteiras, cabras e carpas, em até 30% (KAUR; SAXENA, 2004; SILVA et al., 2010b; FERRINHO, 2013). Ferrinho et al. (2013) concluíram que, apesar de uma dieta com alta inclusão de RUC influenciar negativamente a produtividade dos animais, inclusões de até 33% podem trazer melhorias na produção do leite e na digestibilidade da dieta de bovinos.

Utilizar o RUC como matéria-prima para outros processos ou mesmo para alimentação animal encontra algumas dificuldades técnicas. Por ser um produto com alta umidade (75-81%), é altamente susceptível à deterioração microbiana, exigindo secagem ou

resfriamento imediatamente após ser coletado na cervejaria, ou que haja um transporte rápido entre a cervejaria e a planta de processamento ou fazenda de destino (REPRO, 2008; HUIGE, 2006).

Alguns processos alternativos para a reutilização do RUC que vem sendo estudados atualmente são sua adição em produtos de panificação, como biscoitos, pães e *snacks* extrusados; extração de compostos como proteínas e fibras, por exemplo, arabinoxilanas; sua utilização como substrato para crescimento de microrganismos e outros processos biotecnológicos, incluindo a produção de energia e biocombustíveis (MUSSATTO et al., 2006).

3.2.1.3 Excesso de Levedura

A biomassa de levedura (LEV) é uma fonte de nitrogênio barata com ótimas propriedades nutricionais. Sua composição média, em base seca, é de 48% proteínas, 7% cinzas, 1% gordura e 3% fibras. Apesar de pobre em aminoácidos sulfurados, metionina e cistina, é rica em lisina. Além de fonte de proteínas, a LEV é uma excelente fonte de vitaminas do complexo B, ácidos nucleicos, vitaminas e minerais, incluindo uma forma ativa de cromo conhecida como fator de tolerância à glicose, cuja ação potencializadora sobre a atividade da insulina vem sendo estudada. Além disso, contém inúmeros imunomoduladores como β -glucanas, ácidos nucleicos e oligossacarídeos de manana (FERREIRA, 2010; HUIGE, 2006).

Várias alternativas para a reutilização da biomassa de levedura da indústria de cerveja têm sido estudadas. Destacam-se a sua utilização em processos fermentativos para gerar compostos de alto valor agregado, como microrganismos vivos (produção de enzimas, etanol) ou em forma de hidrolisados ou autolisados como meio de cultura para outros microrganismos; sua utilização para ração animal, com destaque para a aquicultura; sua atuação como agente flavorizante na indústria de alimentos; sua utilização no enriquecimento de formulações de produtos de panificação – biscoitos, *snacks* expandidos, massas alimentícias – aumentando o teor proteico e a oferta de aminoácidos; seu uso como base para extração de compostos como proteínas, ácidos nucleicos e β -glucana; além de sua participação em um processo promissor, de alto valor agregado, atuando como agente detoxificante para efluentes com altas cargas metálicas ou com corantes (FERREIRA, 2010; SANTUCCI et al., 2003ab; ALVIM, 2001).

3.2.1.4 Subprodutos de Cervejaria na Alimentação de Bovinos

Devido à sua composição nutricional, disponibilidade constante durante o ano e preço competitivo em relação a outras fontes de proteínas, como quirera de arroz, farelo de soja e de algodão (CARVALHO, 2016; BRUST et al., 2015), os subprodutos da indústria de cerveja têm sido cada vez mais empregados na alimentação animal, principalmente de bovinos. Entretanto, apenas fazendas próximas às áreas produtoras podem se beneficiar destes resíduos, que apresentam uma alta taxa de deterioração.

A dieta de um bovino deve ser composta por uma mistura de volumoso (feno, serragem, silagem, capim) e concentrado (proteico ou energético), além de vitaminas e minerais (sais). A dieta deve ser balanceada de forma a manter a saúde do animal e maximizar a produção de leite ou massa muscular, sendo ajustada para cada fase da lactação e da idade do animal (EMBRAPA GADO DE LEITE, 2011).

O concentrado deve apresentar 18-20% de proteína bruta (PB), 70% de nutrientes digeríveis totais (NDT) e quantidade inferior a 18% de fibras. Pode ser classificado como concentrado proteico, quando apresenta mais de 20% de PB, por exemplo, o caroço de algodão, ou como concentrado energético, quando apresenta menos de 20% de PB na matéria seca, por exemplo, raspa de mandioca. Já o volumoso é caracterizado por alimentos com quantidade de fibra superior a 18%, imprescindíveis para o bom funcionamento do aparelho digestivo do animal (SALMAN et al., 2011).

Encontrado pelos termos resíduo de cevada, resíduo de cervejaria, cevada úmida, bagaço de malte, bagaço de cevada, o RUC é recomendado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) como complemento da dieta de bovinos (vacas leiteiras com produção abaixo de 20 L leite por dia), porém o órgão alerta que esse resíduo não deve ultrapassar 20% da matéria seca ingerida diariamente, devido à baixa quantidade de energia fornecida pelo alimento. Segundo a EMBRAPA, esse resíduo contém um teor de 23 a 28% de proteína bruta, 64 a 66% de nutrientes digeríveis totais (NDT) e 42% de fibra detergente neutro (FDN), com um teor de matéria seca (MS) variando de 21 a 25%. O teor de MS deve ser observado na hora da compra do resíduo para o cálculo da quantidade do mesmo a ser inserido na dieta (EMBRAPA GADO DE LEITE, 2011).

Uma parte das proteínas presentes no RUC é considerada “proteínas by-pass”, passando intactas pelo rúmen e chegando ao abomaso e ao intestino delgado, onde são absorvidas, juntamente a proteínas microbianas produzidas no rumem pela flora presente. A

presença deste tipo de proteína aumenta o valor proteico da dieta com RUC para ruminantes (HUIGE, 2006; WESTENDORF; WOHLT, 2002).

O grande desafio em utilizar o RUC na alimentação animal está relacionado ao seu transporte e armazenamento nas fazendas. Por sair do processo de produção de cerveja com uma umidade muito alta, em torno de 80%, esse resíduo sofre rapidamente deterioração microbiana, principalmente por fungos, o que pode resultar em mudanças em sua composição centesimal, elevada acidez e surtos de intoxicação nos animais. A retirada de parte da água do RUC na indústria ou a adição de resíduos secos para diminuir sua umidade são boas alternativas para aumentar a conservação do resíduo, que deve ser estocado em silos horizontais ou verticais nas fazendas, porém, evitando-se ao máximo o contato com o ar (HUIGE, 2006; PERES, 2001).

A biomassa de levedura (LEV), excesso de levedura ou levedo de cerveja, é uma ótima fonte de proteínas e de fibras, como glucanas, mananas e hexosaminas poliméricas, que são fonte de energia para ruminantes, e minerais, como potássio, fósforo e selênio (HUIGE, 2006). Apesar de ótima fonte de nutrientes, deve se tomar cuidado com o consumo em larga escala deste resíduo pelos bovinos, devido à presença de álcool etílico, que pode causar intoxicação dos animais em caso de consumo em excesso (HUIGE, 2006; BRUST et al., 2015). Além da contribuição nutricional, a adição da biomassa de levedura ao bagaço de malte na alimentação de ruminantes, traz aumento na palatabilidade e, por consequência, na alimentação voluntária e consumo, além de aumentar o rendimento de leite em vacas leiteiras (HUIGE, 2006).

Assim, vê-se com interesse processos de baixo custo que transformem esses subprodutos em produtos que mantenham suas propriedades nutricionais, porém reduzam os problemas associados à sua utilização *in natura*, como alto teor de umidade, susceptibilidade à deterioração microbiana e teor alcoólico.

3.3 Extrusão Termoplástica

3.3.1 O Processo de Extrusão

A extrusão termoplástica é um processo HTST (*high temperature-short time*) que utiliza alta temperatura, pressão e força de cisalhamento para produzir diversos tipos de produtos, com diversas formas, tamanhos e texturas. Com pouca ou nenhuma modificação dos equipamentos básicos e um controle de processo adequado, é possível produzir uma

grande variedade de alimentos. É um processo contínuo de cocção e formatação projetado para fornecer propriedades físico-químicas únicas aos materiais (STEEL et al., 2012; ALTAN et al., 2009).

Esta tecnologia apresenta, entre suas vantagens: versatilidade, alta produtividade, alta capacidade de produção, economicidade e a não produção de efluentes. Além disso, causa a inativação de fatores antinutricionais (FAN), gelatinização do amido, formação de amido resistente, aumento dos teores de fibra alimentar solúvel, aumento da digestibilidade proteica. No entanto, pode causar variados graus de perda de vitaminas dependendo dos parâmetros de processo e da vitamina em questão, sendo que as vitaminas mais sensíveis são A, E, C e B₁ (tiamina). Porém, por ser um processo com baixo tempo de residência, causa uma menor perda de nutrientes quando comparado a outros processos de cocção (CHANG et al., 2010; GUERREIRO, 2007; KILLEIT, 1994).

Tanto a composição da matéria-prima quanto os parâmetros de processo influenciam diretamente as propriedades do produto final. É necessário escolher com acuidade a umidade de alimentação, a composição química do material (quantidade e tipo de amido, proteínas, gordura e açúcares), seu estado físico e seu tamanho de partícula, a taxa de alimentação, as configurações do alimentador, a temperatura de cada módulo da extrusora, a velocidade e a configuração da rosca, o comprimento da extrusora e a geometria da matriz. Todos estes parâmetros vão determinar a extensão das modificações que o material vai sofrer durante o processo, influenciando as propriedades reológicas da massa fundida fluida dentro da extrusora e, conseqüentemente, as propriedades do produto extrusado (MENG et al., 2010; FELLOWS, 2000).

Uma extrusora é constituída por cinco partes principais: sistema de pré-condicionamento, sistema de alimentação, canhão encamisado, rosca e matriz com sistema de corte. Antes da alimentação no equipamento, ocorre a mistura dos ingredientes e o pré-condicionamento do material para o teor de umidade desejado. A mistura de ingredientes é alimentada por uma rosca, que pode ser vertical ou horizontal. É importante que a alimentação ocorra de forma constante e uniforme para garantir um produto homogêneo, mudanças no fluxo de alimentação podem levar a acumulação de produtos na linha e produto final com diferentes densidades (SCHMIELE, 2009; GUERREIRO, 2007; BRENT, 1998).

Na zona de alimentação, a rosca apresenta canais profundos e largos para permitir uma boa homogeneização do produto. Quando segue para as zonas de transição e de alta pressão, em geral, a profundidade ou a largura dos canais vai diminuindo, provocando um

aumento no atrito e, conseqüentemente, na pressão e na temperatura, culminando no cozimento do material. Na zona de alta pressão, anterior à matriz, a pressão deve ser alta o suficiente para permitir a extrusão do produto em forma apropriada através da matriz (GUERREIRO, 2007; STEEL et al., 2012).

Durante o processo, atrito, calor e alta pressão levam ao superaquecimento e conseqüente fluidização do material, ao causar modificações em seus componentes, como hidratação e gelatinização do amido e transformações na estrutura das proteínas. O material fluido e superaquecido é expulso através da matriz da extrusora, entrando em contato com pressão atmosférica. A instantânea queda da pressão provoca a expansão das bolhas de vapor de água superaquecido e o escape do gás, seguido por uma queda rápida de temperatura, resultando no aumento da viscosidade do material e na solidificação do produto em estado vítreo (STEEL et al., 2012).

3.3.2 Efeito das Matérias-Primas

Os produtos extrusados apresentam diferentes capacidades de reter a pressão de vapor após a saída pela matriz, de acordo com a composição e a umidade. As matérias-primas mais usadas para a extrusão são as de base amilácea ou de base proteica. Matérias-primas amiláceas necessitam de menor umidade para hidratação e têm maior capacidade de expansão; são a base para cereais matinais, *snacks* e biscoitos. Já matérias-primas com maior teor proteico necessitam de maior quantidade de água para hidratação, por causa da hidrofobicidade de certas proteínas, o que gera uma maior retenção do vapor de água e, conseqüentemente, uma menor expansão do extrusado. Proteínas são a base para a produção de análogos de carne e *pet foods* (SCHMIELE, 2009; CHANG et al., 2010; STEEL et al., 2012).

A expansão do produto extrusado será inversamente proporcional ao teor de umidade do material a ser alimentado na extrusora, pois a água tem efeito lubrificante e plastificante, diminuindo a viscosidade da massa e a energia mecânica do sistema. Em sistemas com alta quantidade de água (50-70%), a gelatinização do amido é reduzida e o crescimento das bolhas é retardado, formando produtos densos e duros, pois não conseguem manter uma estrutura expandida por não estarem suficientemente frios após a expansão do gás e colapsarem. A extrusão a alta umidade é comumente utilizada para a fabricação de *pellets* e produtos de alta densidade. Quando a extrusão é feita a baixa umidade (15-30%), além da maior gelatinização, pode ocorrer maior dextrinização do amido. O produto apresenta maior

expansão e, conseqüentemente menor densidade (STEEL et al., 2012). Exemplos deste tipo de produto são *snacks* e cereais matinais expandidos.

O efeito dos ingredientes e dos parâmetros de processo também vão ser refletidos nas respostas do processo ou parâmetros do sistema como o torque do motor, a pressão na matriz, a temperatura do produto e a energia mecânica do sistema (EMS). Por serem o resultado de uma combinação de fatores e condições, os parâmetros do sistema podem ser utilizados na descrição ou na comparação de processos com diferentes condições de operação. De acordo com Meng et al. (2010), a EMS pode ser correlacionada com propriedades dos extrusados como expansão, densidade e textura.

A tecnologia de extrusão é normalmente utilizada para produtos com alto teor de amido, como milho, batata, arroz e trigo, devido às características de expansão que conferem ao extrusado, porém, é também aplicável a produtos com alta quantidade de fibras. O crescente interesse por produtos mais saudáveis e “*ecofriendly*” levou ao aumento de pesquisas envolvendo extrusão de produtos à base de amido com adição de ingredientes com alto teor de fibras, e ao desenvolvimento de novos produtos, com novas propriedades e sensorialmente atrativos, inclusive com a incorporação de subprodutos da indústria, por exemplo, bagaço de malte, que além de ser um ingrediente rico em fibras, proteínas e minerais, apresenta baixo custo (MAKOWSKA et al., 2013).

3.3.3 Estudos com Incorporação de RUC

Em 2005, na Europa, teve início o projeto REPRO (*Reducing Food Processing Waste*), um projeto da União Europeia que contou com a colaboração de diversas universidades. O objetivo do programa era transformar subprodutos da agroindústria em produtos com maior valor agregado para alimentação humana ou animal, utilizando e/ou desenvolvendo métodos avançados e integrados de (bio)processos. Para tanto, decidiram focar em dois subprodutos: resíduo úmido de cervejaria (RUC), proveniente da brassagem de malte de cevada, e aparas de vegetais, em particular de hortaliças brássicas (REPRO, 2008).

Quanto ao RUC, dois processos principais foram considerados: processo de extrusão com e sem o envolvimento de bioprocessamento; e fracionamento do RUC por enzimas de modo a fornecer rotas para a produção de proteínas e sacarídeos funcionais. Através do processo de extrusão, dois produtos foram alvejados: (i) incorporação de RUC em ração de peixe tipo *pellet* como fonte proteica, o qual gerou uma patente (*PCT application* N° PCT/IB2007/052769); e (ii) incorporação de RUC em *snacks* à base de farinha de grão-de-

bico, o qual foi modelado e teve todo o seu processo produtivo avaliado, desde aspectos legislativos, aspectos microbiológicos e APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle), aceitação socioeconômica e ambiental (REPRO, 2008). A partir deste projeto, foram gerados dois relatórios científicos, além de vários artigos, entre os quais os trabalhos de Ainsworth et al. (2007), Stojceska et al. (2008) e Stojceska et al. (2009), que serviram de base para comparação no presente estudo.

No relatório científico divulgado pelos participantes do projeto, foram relatadas as dificuldades encontradas em se utilizar a extrusão termoplástica como um meio de estabilização do RUC. Por ser um processo que trabalha a alta pressão, alta temperatura e altas taxas de cisalhamento, esperava-se que este pudesse tanto diminuir os níveis de umidade do RUC quanto diminuir a sua carga microbiana, em uma única operação unitária. Porém, além da dificuldade em alimentar a extrusora com o resíduo úmido - o que limitou a velocidade de alimentação e a da rosca - a redução da umidade foi mínima, com uma única passagem pelo equipamento. Apesar da obtenção da redução de 1 ciclo *log* na carga microbiana, concluiu-se que, em uma única passagem pela extrusora, o choque térmico poderia estimular a germinação de esporos.

Porém, os participantes do projeto concluíram que utilizar o processo de extrusão para a incorporação de RUC em produtos alimentícios (*snacks*) é vantajoso, pois é um processo HTST que trabalha com grandes volumes, é econômico e não gera novos subprodutos, sendo possível produzir um *snack* expandido com boa qualidade sensorial, desde que selecionados os ingredientes e parâmetros de processo adequados. Assim, notou-se que várias operações unitárias seriam necessárias para o processo completo, incluindo a secagem do RUC, por prensagem ou secagem em estufa, e sua moagem a partículas de tamanho uniforme, de modo a garantir uma taxa de alimentação constante.

Ainsworth et al. (2007) estudaram o efeito da adição de RUC (0-30% sobre a farinha de milho) e da velocidade da rosca sobre as propriedades tecnológicas e nutricionais de *snacks* extrusados. Os autores secaram o RUC a 150°C por 4 h, até uma umidade de 8%, antes da extrusão. Observaram que o aumento da velocidade da rosca culminou em maior expansão, menor formação de amido resistente e também na diminuição da dureza, parâmetro que apresentou resultados difusos com o aumento de RUC. A adição do subproduto resultou em aumento de proteína digerível *in vitro* e de amido resistente ($p < 0,05$), porém também na diminuição da expansão e da luminosidade (L) das amostras e no aumento da quantidade de ácido fítico.

Stojceska et al. (2008) estudaram os efeitos da incorporação de RUC (10-30%) na textura e nas propriedades funcionais de *ready-to-eat snacks* produzidos por tecnologia de extrusão. O RUC foi utilizado após processo de secagem em estufa, a 150°C por 4 h, e moagem. Descobriu-se que a adição de RUC causou o aumento da quantidade de proteínas e de ácido fítico e da densidade aparente dos *snacks*. Conseqüentemente, o RUC causou diminuição no índice de expansão, na área individual e total das células de ar. Além disso, um maior nível de RUC resultou em células com paredes mais grossas e em uma superfície mais rugosa.

Stojceska et al. (2009) estudaram o efeito da variação da umidade de entrada (12-17%) na qualidade de extrusados de farinha de milho ou de trigo com 10% de RUC. Seus resultados revelaram que tanto o processo de extrusão quanto o aumento na umidade de entrada para 15% provocam um aumento no nível de fibra alimentar total (FAT) nos extrusados, provavelmente associado ao aumento de amido resistente nas amostras. Além disso, o seu estudo demonstrou que a umidade de entrada também afeta o índice de expansão, a densidade aparente, a dureza instrumental, o índice de solubilidade em água, a energia mecânica do sistema e a cor.

Kirjoranta et al. (2016) avaliaram o efeito dos parâmetros de processo em *snacks* à base de cevada enriquecidos com RUC (10%), isolado proteico de soro de leite – IPS (20%) e/ou amido (34,5-39,5%), variando umidade (17-23%), velocidade da rosca (200-500 rpm) e temperatura da zona de saída (110-150°C). Os resultados indicaram que a adição de RUC (10%) levou a uma maior dureza e menor expansibilidade dos *snacks*, enquanto um aumento na expansão foi observado com o aumento da velocidade da rosca e a diminuição da umidade.

Altan et al. (2009) avaliaram o efeito da configuração da rosca e da composição em propriedades de extrusados de cevada, utilizando *grits* de cevada ou farinha de cevada para duas diferentes configurações de severidade da rosca: média e severa. A configuração severa produziu *snack* com maior expansão e menor densidade aparente, dureza e força de quebra.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Resíduo úmido de cervejaria (RUC), composto de grãos e casca de malte proveniente da mostura de cerveja padrão (com adição de adjuntos cervejeiros); resíduo de levedura (LEV), obtido dos tanques de fermentação e maturação de cerveja; pó de malte (PDM), resultante da aspiração de pós e finos durante transporte de malte em uma fábrica de cerveja; pó de arroz (PDA) resultante da aspiração de pós e finos durante transporte de arroz em uma fábrica de saquê; e *grits* de milho (GRITS), utilizado como adjunto na fabricação de cerveja, doados por uma indústria de bebidas brasileira.

4.2 Métodos

As matérias-primas foram recebidas em um único lote. RUC e LEV, produtos de alta umidade e perecibilidade, foram armazenados em câmara de congelamento (-18°C), enquanto PDM, PDA e GRITS foram armazenados em bombonas vedadas, à temperatura ambiente. As matérias-primas foram caracterizadas quanto à composição centesimal, incluindo o teor de fibra alimentar e as análises foram realizadas em triplicata. Além disso, foram realizadas análises microbiológicas para quantificação de *B. cereus*, coliformes totais, bolores e leveduras, esporos mesófilos e termófilos, bem como de detecção de *Salmonella sp.*

Por utilizar subprodutos como matéria-prima e visando a um produto de baixo custo, optou-se por realizar a menor quantidade possível de operações unitárias, de modo a não encarecer o processo. Porém, as altas umidades do RUC e da LEV mostraram-se um desafio para o processo de extrusão, uma vez que testes preliminares levaram à definição de uma umidade limite de 30% para que uma mistura fosse adequadamente alimentada na extrusora dupla rosca do Laboratório de Cereais, Raízes e Tubérculos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP.

A partir de então, duas hipóteses foram elaboradas para a extrusão dos subprodutos, visando atingir uma umidade de 30% no ponto equivalente ao centroide do triângulo de misturas: A) Secagem do RUC em estufa (90°C/overnight) anteriormente à mistura com os outros ingredientes; B) Mistura do RUC e da LEV com quantidade suficiente de um ingrediente seco para atingir 30% de umidade.

A partir dos resultados das análises microbiológicas, decidiu-se conduzir um dos delineamentos sem a adição de pó de malte (PDM), enquanto soluções para o problema de alta contaminação do mesmo eram exploradas. Assim, definiu-se conduzir o Delineamento A com diferentes proporções de RUCseco, LEV e GRITS. Os *blends* foram elaborados de acordo com um Planejamento Experimental de Misturas, seguindo um delineamento Simplex-Centroide 3-2 modificado, com 3 (três) repetições no ponto central, totalizando 12 (doze) ensaios.

Como os tratamentos testados não surtiram o efeito desejado na redução da contagem microbiológica do pó de malte (PDM), decidiu-se utilizar o pó proveniente da bombona com menor contagem total de bactérias mesófilas aeróbias, dentre as 4 (quatro) recebidas da indústria, utilizando-o, porém, em quantidades reduzidas nos *blends* do Delineamento B. Por esse motivo, o PDA, e não o PDM, foi escolhido como ingrediente amiláceo de baixa umidade a ser empregado em quantidades suficientes para reduzir a umidade do ponto central do Delineamento B até um valor igual ou inferior a 30%. Assim, decidiu-se conduzir o Delineamento B com diferentes proporções de RUC, LEV e PDM, e uma quantidade fixa de PDA. Os *blends* foram elaborados de acordo com um Planejamento Experimental de Misturas, seguindo um delineamento Axial Normal com 3 (três) componentes e 3 (três) repetições no ponto central, totalizando 9 (nove) ensaios. Esse é um delineamento de *screening*, utilizado quando não se sabe muito sobre os fatores e deseja-se ter uma visão geral de seus efeitos.

Os *blends* de ambos os delineamentos foram avaliados quanto à umidade e tiveram sua composição centesimal calculada com base nas proporções utilizadas de cada matéria-prima.

Pré-testes foram conduzidos em uma extrusora dupla rosca corrotacional encaixada ZSK 30 – Werner & Pfleiderer (Shelton, CT, U.S.A.), utilizando os ensaios referentes ao centroide dos delineamentos, a serem detalhados, para definir os parâmetros de extrusão a serem aplicados no estudo: velocidade de alimentação, velocidade da rosca, temperaturas das zonas e matriz.

Os produtos extrusados seguindo os dois delineamentos (A e B) foram secos em estufa a 80°C por 30 min e foram avaliados quanto às suas características tecnológicas: densidade aparente (Densidade); índice de expansão seccional (IE); textura instrumental (Dureza); e índices de absorção de água (IAA) e de solubilidade em água (ISA); além disso, foram caracterizados quanto à sua umidade (Usec); atividade de água (a_w) e teor de proteínas

(Proteínas). Foram também quantificadas as umidades dos *blends* (*Ublend*) e dos produtos extrusados antes de passarem pela secagem em estufa (Uúmido).

A análise estatística dos dados foi realizada por regressão PLS (*Partial Least Squares*), no *software* MODDE PRO 12 (SARTORIUS, 2017) e, através de análises de desejabilidade dos parâmetros estatisticamente significativos ($p \leq 0,05$), selecionou-se a melhor proporção dos componentes da mistura para cada delineamento. Os *blends* otimizados foram preparados e extrusados nas mesmas condições definidas para os delineamentos.

Os produtos otimizados foram avaliados quanto às suas características tecnológicas físicas através de análises de Densidade Aparente (Densidade), Índice de Expansão Seccional (IE), Textura Instrumental (Dureza); características tecnológicas funcionais através dos Índices de Absorção de Água (IAA) e de Solubilidade em Água (ISA) e propriedades de pasta (RVA); características do processo, através da Energia Mecânica Específica (EME); e, por fim, quanto às suas características nutricionais, por sua composição centesimal e digestibilidade *in vitro* de proteínas (DIVP). Foram ainda realizadas análises microbiológicas, as mesmas descritas para as matérias-primas, tanto dos *blends*, quanto dos produtos extrusados úmidos (com exceção de contagem de esporos, *B. cereus* e detecção de *Salmonella spp.*), para verificar a eficiência do processo de extrusão e dos produtos extrusados secos, de modo a verificar a inocuidade do produto final.

4.2.1 Caracterização das Matérias-Primas

4.2.1.1 Umidade

A umidade foi determinada por secagem em estufa. A umidade do RUC e do PDM foi determinada segundo o método 945.32 da AOAC (2005) e a umidade da LEV pelo método 945.31 para levedura líquida ou prensada. Para o *grits* de milho e para o pó de arroz foi utilizada a metodologia 925.10 da AOAC (2005).

4.2.1.2 Proteínas

A quantidade de proteínas foi determinada pelo método de micro Kjeldahl, 46.13-01 da AACCI (2011).

4.2.1.3 Cinzas

A determinação de cinzas foi realizada após a incineração das amostras a 550°C, pelo método 923.03 da AOAC (2005).

4.2.1.4 Lipídeos

A determinação de lipídeos foi realizada por extração exaustiva em Soxhlet utilizando éter etílico como solvente, de acordo com o método 30-25.01 da AACCI (2011).

4.2.1.5 Fibra Alimentar Total, Insolúvel e Solúvel

Foram determinadas as porcentagens de fibra alimentar total e fibra alimentar insolúvel pelo método 985.29 da AOAC (2005), que combina métodos gravimétricos e enzimáticos. A quantidade da porção solúvel foi determinada por diferença.

4.2.1.6 Carboidratos Digeríveis

Os carboidratos digeríveis foram determinados indiretamente por subtração da concentração dos outros componentes nas amostras, de modo que:

Carboidratos digeríveis = 100% – (% umidade + % proteínas + % cinzas + % lipídeos + % fibra alimentar).

4.2.1.7 Fitatos

A determinação de fitatos foi feita através da quantificação dos diferentes fosfatos mio-inositol presentes nas amostras, através de uma combinação do método oficial da AOAC (2005), método 986.11, e de cromatografia *ion-pair*, de acordo com 1

4.2.1.8 Análises Microbiológicas

Foram realizadas análises de contagem de *Bacillus cereus*, coliformes totais e termotolerantes por número mais provável (NMP), e detecção de *Salmonella sp.*, conforme indicado pela RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, para “farelo e fibras de cereais, com ou sem mistura de farinhas, de outros produtos de cereais, com ou sem adições de outros ingredientes e similares” (BRASIL, 2001a). Além disso, devido à conhecida contaminação dos resíduos de cervejaria por fungos e esporos, foram também realizadas contagem total de fungos e leveduras em placas, contagem de esporos de termófilos aeróbios totais e *flat-sour*, e contagem de esporos mesófilos aeróbios. Todas as análises foram baseadas nos métodos apresentados por Silva et al. (2010a). As análises foram realizadas no dia seguinte à recepção dos materiais, com exceção do RUC, que foi analisado no dia de sua coleta e recepção.

4.2.2 Planejamento Experimental de Misturas

Um planejamento experimental de misturas tem como objetivo avaliar, por meio de uma superfície de resposta, como diferentes proporções dos componentes da mistura afetam propriedades de interesse no produto, independentemente da quantidade final da mesma. Quando expressas em frações da mistura, as proporções não podem ser negativas e devem somar uma unidade (FARAONI et al., 2012).

No presente projeto foram determinados limites inferiores para os componentes com base nas proporções nas quais são gerados na indústria e em testes preliminares (CORNELL, 2011).

A Figura 1 apresenta os limites inferiores para o Delineamento A, contendo RUCseco (x_1), LEV (x_2) e GRITS (x_3), e a Figura 2 apresenta os mesmos para o Delineamento B, contendo RUC (x_1), LEV (x_2), PDM (x_3) e PDA, fixa em 55% do total da mistura.



Figura 1 - Limites inferiores de adição dos componentes das misturas do Delineamento A



Figura 2 - Limites inferiores de adição dos componentes das misturas do Delineamento B, mantendo-se fixo PDA em 55% do total do *blend*

Para o Delineamento A foi escolhido um modelo simplex-centroide modificado, um modelo de otimização por superfície de resposta (RSM – *Response Surface Methodology*), quadrático, que inclui pontos nos vértices do simplex, no centro das arestas, pontos axiais internos e o centroide, conforme ilustrado na Figura 3. Decidiu-se por 3 (três) repetições do ponto central, para avaliar a reprodutibilidade do processo, assim, obteve-se um modelo com 12 (doze) ensaios, apresentado na Tabela 1.

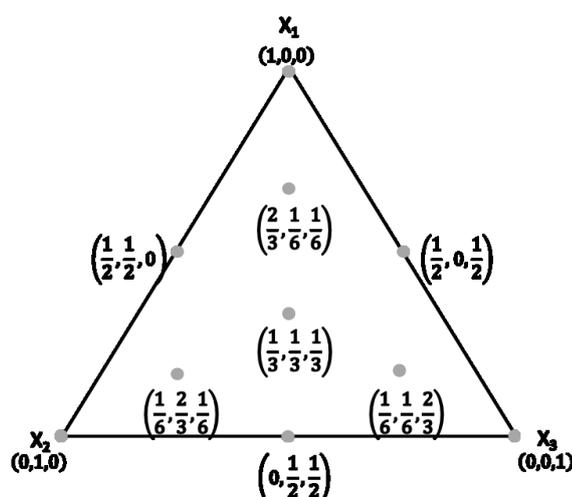


Figura 3 - Delineamento simplex-centroide modificado, com 3 (três) componentes, utilizado no Delineamento A

Tabela 1 - Concentrações reais e L-pseudocomponentes do simplex-centroide, com 3 componentes - Delineamento A

Ensaio	L-pseudocomponentes			Concentração Real		
	x'1	x'2	x'3	x1	x2	x3
1	1	0	0	0,70	0,10	0,20
2	0	1	0	0,40	0,40	0,20
3	0	0	1	0,40	0,10	0,50
4	1/2	0	1/2	0,55	0,10	0,35
5	0	1/2	1/2	0,40	0,25	0,35
6	1/2	1/2	0	0,55	0,25	0,20
7	2/3	1/6	1/6	0,60	0,15	0,25
8	1/6	2/3	1/6	0,45	0,30	0,25
9	1/6	1/6	2/3	0,45	0,15	0,40
10	1/3	1/3	1/3	0,50	0,20	0,30
11	1/3	1/3	1/3	0,50	0,20	0,30
12	1/3	1/3	1/3	0,50	0,20	0,30

Onde x'1, x'2, x'3 correspondem aos L-pseudocomponentes de RUCseco, LEV e GRITS, respectivamente, e x1, x2, x3 correspondem aos valores reais de RUCseco, LEV e GRITS, respectivamente, sendo RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; GRITS = *grits* de milho.

Para o Delineamento B foi escolhido um modelo de *screening*, linear, utilizado quando não se conhece muito sobre os componentes, para verificar a importância de fatores e se esses estão sendo utilizados em faixas adequadas. Foi utilizado um delineamento axial padrão de 3 (três) componentes (AXN), com 3 (três) repetições do ponto central, totalizando 9 (nove) ensaios, conforme ilustrado na Figura 4 (CORNELL, 2002; SARTORIUS, 2017). A

Tabela 2 apresenta as L-pseudocomponentes e as concentrações reais dos componentes da mistura utilizados para o Delineamento B.

O valor mínimo de PDA calculado para se obter uma umidade menor que 30% para o ponto correspondente ao centroide do simplex foi 55%. Este valor de umidade foi definido como o máximo que garante uma alimentação uniforme e contínua das matérias-primas na extrusora. Assim, estabeleceu-se um valor fixo de 55% de PDA sobre o total da mistura para todos os *blends*. Também, a soma das proporções de RUC, LEV e PDM, que variaram de acordo com o delineamento apresentado na Figura 4 e na Tabela 2, deve ser igual a uma unidade. Pode-se descrever a composição dos *blends* pela Equação 1:

$$(RUC+LEV+PDM)*0,45 + PDA*0,55 = 1$$

Equação 1

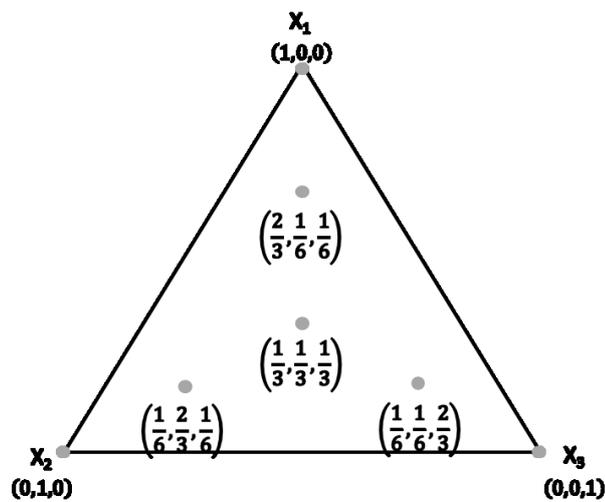


Figura 4 - Delineamento axial normal, com 3 (três) componentes, utilizado para o Delineamento B

Tabela 2 - Concentrações reais e L-pseudocomponentes do delineamento axial normal, com 3 componentes - Delineamento B

Ensaio	L-pseudocomponentes			Concentração Real		
	x'1	x'2	x'3	x1	x2	x3
1	1	0	0	0,6	0,1	0,3
2	0	1	0	0,3	0,4	0,3
3	0	0	1	0,3	0,1	0,6
4	2/3	1/6	1/6	0,5	0,15	0,35
5	1/6	2/3	1/6	0,35	0,3	0,35
6	1/6	1/6	2/3	0,35	0,15	0,5
7	1/3	1/3	1/3	0,4	0,2	0,4
8	1/3	1/3	1/3	0,4	0,2	0,4
9	1/3	1/3	1/3	0,4	0,2	0,4

Onde x'_1 , x'_2 , x'_3 correspondem aos pseudocomponentes de RUC, LEV e PDM, respectivamente, e x_1 , x_2 , x_3 correspondem aos valores reais de RUC, LEV e PDM, respectivamente, sendo RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; PDM = pó de malte.

4.2.3 Processo de Extrusão

O processo de extrusão foi realizado em uma extrusora dupla rosca corrotacional encaixada: ZSK 30 – Werner & Pfleiderer Corp. (Ramsey, USA) apresentando L/D (comprimento/diâmetro) de 29. Os parâmetros de processo: (i) velocidade de alimentação (rpm); (ii) configuração da rosca; (iii) velocidade da rosca (rpm); (iv) perfil de temperatura (°C); e (v) geometria da matriz (mm), foram fixados com base na literatura e testes preliminares. Já a umidade de entrada é inerente a cada *blend*; seu valor foi calculado com base na umidade de cada componente e medido no dia da extrusão.

A partir de testes preliminares, utilizando os *blends* correspondentes ao centroide, definiram-se os seguintes parâmetros de processo: velocidade de alimentação: 250 rpm; velocidade da rosca: 390 rpm; temperatura das zonas, da zona de alimentação para a matriz: 40/55/80/110°C; e diâmetro da matriz: 4,8 mm. A configuração da rosca utilizada, partindo da extremidade de alimentação para a matriz, considerando-se que nenhum elemento contrário ao fluxo foi utilizado, cada elemento sendo denominado por seu comprimento, seguido pelo passo da rosca, foi: 120 mm, passo 60 mm; 84 mm, passo 42 mm; *kneading block* 28 mm neutro – 90°C, 5 cristas; 21 mm, passo 42 mm; 80 mm, passo 20 mm; *kneading block* 28 mm neutro – 90°C, 5 cristas; 21 mm, passo 42 mm; 28 mm, passo 28; 100 mm, passo 20 mm; 28 mm, passo 28; 14 mm, passo 28; *kneading block* 14 mm – 45°C, 5 cristas; 80 mm, passo 20 mm; 28 mm, passo 28; 10 mm, passo 20 mm; 60 mm, passo 20 mm; 80 mm, passo 20 mm.

Após a extrusão, os produtos foram secos em estufa, a 80°C, por 30 minutos. Estes parâmetros foram escolhidos após testes preliminares com o ponto equivalente ao centroide do Delineamento A. Procurou-se utilizar um tempo curto associado a uma temperatura um pouco mais elevada do que o normalmente utilizado (aproximadamente 50°C, *overnight*) para secagem de extrusados para diminuir os custos sem causar grandes alterações no produto.

4.2.4 Caracterização dos Produtos Extrusados

4.2.4.1 Umidade

A umidade dos produtos extrusados foi determinada após a saída da extrusora e após a secagem dos produtos, segundo o método 44-15.02 da AACCI (2011).

4.2.4.2 Atividade de Água

A atividade de água foi determinada em um medidor de atividade de água AquaLab, modelo 4TE (Decagon, Pullman, Washington, EUA), com as amostras trituradas.

4.2.4.3 Densidade aparente

A densidade aparente (g/cm^3) das amostras foi determinada a partir da medida da massa das amostras, com precisão de 4 dígitos, e de suas dimensões, diâmetro e extensão, utilizando-se um paquímetro, através da Equação 2, que representa a densidade de um cilindro:

$$\text{Densidade} = \frac{4m}{\pi d^2 L}$$

Equação 2

Onde: Densidade: densidade aparente; m: massa (g); d: diâmetro do extrusado (cm); L: comprimento do extrusado (cm).

A amostra de extrusado otimizado a partir o Delineamento A apresentou interior oco, portanto a fórmula de densidade teve que ser adaptada para uma casca de cilindro, apresentada na Equação 3:

$$\text{Densidade} = \frac{m}{\pi d e L}$$

Equação 3

Onde: Densidade: densidade aparente; m: massa (g); d: diâmetro do extrusado (cm); L: comprimento do extrusado (cm); e: espessura da casca do cilindro (cm).

4.2.4.4 Índice de Expansão (IE)

Vinte amostras foram coletadas aleatoriamente de cada ensaio e o índice de expansão foi determinado através da razão entre o diâmetro do produto extrusado, medido com um paquímetro digital *Craftsman*, e o diâmetro da matriz utilizada na extrusora, de acordo com o método proposto por Mercier et al. (1998).

4.2.4.5 Textura Instrumental

De forma a obter-se um indicativo da dureza dos produtos, foram coletadas medidas de textura de 15 amostras de cada ensaio em analisador de textura Stable Micro Systems, modelo TA-XT2i (Haslemere, Grã-Bretanha), com carga máxima de 50 kg. Foi utilizada uma *probe* Warner Bratzler V Slot blade, velocidade de pré-teste de 2,00 mm/s, velocidade de teste de 1,00 mm/s, velocidade pós-teste de 5,00 mm/s e distância de ruptura de 20,00 mm. Os resultados estão expressos em Newtons (N) e representam a média aritmética da força de ruptura das 15 amostras.

4.2.4.6 Cor Instrumental

A cor instrumental foi determinada em espectrofotômetro Mini Scan XE 45/0-L HUNTERLAB (Reston, USA), utilizando o sistema CIELab (L^* , a^* , b^*), onde L^* representa a luminosidade, variando de zero (preto) a 100 (branco), a^* e b^* representam o espectro de cores, com a^* variando do verde (-60) ao vermelho (+60) e b^* do azul (-60) ao amarelo (+60). A análise foi realizada após a moagem das amostras até uma farinha fina (MINOLTA, 1993).

4.2.4.7 Índice de Absorção de Água (IAA) e de Solubilidade em Água (ISA)

O índice de absorção de água (IAA) e o índice de solubilidade em água (ISA) foram determinados em triplicata de acordo com o método desenvolvido por Anderson (1982). Uma amostra de 2,5 g em base seca foi mantida por 30 min, a 25°C, em 30 mL de água destilada, em tubos com capacidade de 50 mL, sob agitação. A suspensão foi centrifugada a 3.000 g, por 15 min, e o sobrenadante foi transferido para placas de Petri de peso conhecido e levado para secagem em estufa com circulação de ar, a 105°C, por 4 h. O ISA corresponde ao peso dos sólidos secos no sobrenadante, expressos em porcentagem do peso original da amostra. O IAA representa a relação entre o peso do resíduo da centrifugação, após remoção do sobrenadante, e o peso do conteúdo original de sólidos secos.

4.2.4.8 Viscosidade de Pasta

As propriedades de pasta foram analisadas em um Rapid Visco Analyser 4500 (RVA4500, Newport Scientific Pty. Ltda., Austrália), com o advento do *software Thermocline for Windows*. Foram utilizadas 3,5 g de amostra, ajustadas a 14% de umidade, e 25 mL de água. Os *blends* foram analisados utilizando-se a configuração *Standard 1*, enquanto para os extrusados utilizou-se *Extrusion 1* (sem álcool).

Os parâmetros de propriedades de pasta avaliados foram: a) temperatura de pasta (TP) (°C): temperatura na qual a viscosidade da pasta começa a aumentar, durante o ciclo de aquecimento, para o programa *Standard 1*, ou, viscosidade de pasta inicial a frio (Vinicial) (cP): viscosidade a 25°C, no início do ciclo de aquecimento, no programa *Extrusion 1*; b) viscosidade de pasta máxima (Vmáx) (cP): viscosidade no ponto máximo da curva, durante o ciclo de aquecimento; c) viscosidade de pasta mínima a quente (Vmín) (cP): valor mínimo de viscosidade durante o platô de temperatura de 95°C; d) quebra de viscosidade (QV) (cP): é a diferença entre Vmáx e Vmín; e) viscosidade final (Vf) (cP): viscosidade ao final da análise, no ciclo de resfriamento, a 25°C; f) tendência à retrogradação (TR): diferença entre Vf e Vmín (ADEDOKUN e ITIOLA, 2010; TEBA et al., 2010).

4.2.4.9 Propriedades Nutricionais

Os produtos extrusados provenientes dos dois delineamentos (A e B) foram avaliados quanto ao seu teor proteico, pelo método 46.13-01 da AACCI (2011). Já os extrusados resultantes dos *blends* otimizados foram caracterizados quanto à sua composição centesimal, determinada conforme os métodos já apresentados para as matérias-primas nos itens 4.2.1.2 a 4.2.1.6, quantificação de fitatos, conforme o item 4.2.1.7, e digestibilidade *in vitro* de proteínas (DIVP), apresentado no item 4.2.4.10.

4.2.4.10 Digestibilidade *In Vitro* das Proteínas – DIVP

A DIVP das amostras foi determinada com base na metodologia proposta por Stojceska et al. (2008) e Ainsworth et al. (2007), com modificações. Apenas os *blends* e extrusados resultantes da otimização foram avaliados. Preparou-se, em triplicata, 50,0 mL de solução aquosa das amostras, contendo 2,57 mg proteínas/mL. As soluções foram mantidas por 60 min a 37°C, com agitação intermitente, para hidratação e solubilização dos compostos. Passada uma hora, seu pH foi ajustado para 8,00, utilizando-se NaOH ou HCl 0,1 N. Adicionou-se 5,0 mL de tripsina em concentração de 1,6 mg/mL, e registrou-se declínio do pH após 15 s da adição da enzima e, então, a cada 1 min, por 10 min. Uma nova solução da

enzima foi preparada para cada batelada de análises e esta foi mantida em banho de gelo durante todo o procedimento. Análises foram realizadas em triplicata. A porcentagem de digestibilidade proteica (Y) foi calculada através da Equação 4.

$$Y = 210,4 - 8,1x$$

Equação 4

Onde x representa a mudança de pH após 10 min.

4.2.4.11 Análises Microbiológicas

Foram realizadas para os produtos extrusados as mesmas análises microbiológicas descritas para as matérias-primas no item 4.2.1.7.

4.2.4.12 Energia Mecânica Específica (EME)

A EME foi determinada a partir dos parâmetros de processo, de acordo com a Equação 5 (STOJCESKA et al., 2008):

$$\text{EME (kWh/kg)} = \frac{\text{Velocidade da rosca (rpm)} \times \text{Potência do motor (kW)} \times \text{Torque (\%)}}{\text{Velocidade máxima da rosca (rpm)} \times \text{Vazão de alimentação (kg/h)} \times 100}$$

Equação 5

4.2.5 **Análise Estatística**

Para a análise estatística e construção das superfícies de contorno, utilizou-se o programa MODDE PRO 12 (SARTORIUS, 2017). Empregou-se a regressão PLS (*Partial Least Squares*) (ERIKSSON et al., 1998) e adotaram-se três métodos para avaliação e definição dos modelos de cada resposta:

- Análise e maximização de R^2 (*goodness of fit*) e Q^2 (*goodness of prediction*);
- Análise de variância, ANOVA, para checar se os modelos são significativos ao nível de 5% e se não apresentam falta de ajuste (*lack of fit*) a 5%;
- Análise da normalidade dos resíduos e da distribuição de t_i e u_i , vetores da regressão PLS.

R^2 representa a porcentagem de variação da resposta explicada pelo modelo, enquanto Q^2 representa a porcentagem de variação da resposta predita pelo modelo de acordo com a validação cruzada realizada pelo programa, e é expressa na mesma unidade de R^2

(SARTORIUS, 2017). Estabeleceu-se um R^2 mínimo de 0,70 e uma diferença entre R^2 e Q^2 menor que 0,30.

Para o Delineamento A, o objetivo foi a otimização, portanto, a regressão foi baseada em um modelo quadrático de Cox (ERIKSSON et al., 1998), Equação 6, com restrição externa geral de $X_1 + X_2 + X_3 = 1$, referente aos 3 componentes da mistura.

$$Y = \beta_0 + \beta_1X_1 + \beta_2X_2 + \beta_3X_3 + \beta_{11}X_1^2 + \beta_{22}X_2^2 + \beta_{33}X_3^2 + \beta_{12}X_1X_2 + \beta_{13}X_1X_3 + \beta_{23}X_2X_3 + \varepsilon$$

Equação 6

Já o Delineamento B, com o objetivo de *screening*, foi baseado em um modelo de Cox linear (Equação 7).

$$Y = \beta_0 + \beta_1X_1 + \beta_2X_2 + \beta_3X_3 + \varepsilon$$

Equação 7

Todos os dados para a regressão PLS são centralizados e dimensionados para variância unitária, assim como os coeficientes obtidos.

As matrizes de correlação para os Delineamentos A e B, geradas pelo programa, encontram-se nos Apêndices 1 e 2, respectivamente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização das Matérias-Primas

5.1.1 Composição Centesimal

A Tabela 3 apresenta a atividade de água, a composição centesimal e a quantificação de fitatos das matérias-primas utilizadas no projeto. RUC e LEV passaram por um pré-tratamento antes das análises, o RUC foi seco em estufa, a 90°C/~14 h, pois assim seria utilizado no Delineamento A, e a LEV foi liofilizada. Assim, apenas a umidade e a atividade de água correspondem a esses subprodutos em seu estado natural, as outras análises foram realizadas com RUC e LEV secos.

Tabela 3 - Composição centesimal, em base seca, umidade e atividade de água das matérias-primas

	RUC	LEV	PDM	PDA	GRITS
Atividade de água	1,0117±0,0040	0,9867±0,0071	0,5162±0,0005	0,5303±0,0114	0,6223±0,0001
Umidade (%)	78,57±0,11	85,46±0,18	7,55±0,12	9,78±0,17	11,34±0,04
Proteínas (% b.s.)	18,25±0,53	53,25±0,30	13,12±0,62	17,65±0,26	7,34±0,07
Cinzas (% b.s.)	3,81±0,06	6,79±0,17	3,69±0,10	1,26±0,01	0,36±0,20
Lipídeos (% b.s.)	13,58±0,53	2,52±0,56	3,36±0,01	3,38±0,05	2,63±0,11
FDT (% b.s.)	54,52±1,91	19,88±1,11	15,03±0,15	12,22±0,89	0,00
FDI (% b.s.)	57,91±3,03	12,75±0,63	13,92±1,07	0,95±0,17	0,00
FDS (% b.s.)	0	7,13	1,11	11,27	0,00
Carboidratos* (% b.s.)	9,84	17,55	64,79	65,49	89,66
Mio-inositol fosfato					
IP₆ (µmol/g)	8,08±0,06	nd	1,41±0,03	11,24±0,13	nd
IP₅ (µmol/g)	1,50±0,03	nd	nd	nd	nd
IP₄ (µmol/g)	0,33±0,01	nd	nd	nd	nd
IP₃ (µmol/g)	nd	nd	nd	nd	nd

Média de três repetições ± desvio padrão; b.s. = base seca; RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; PDM = pó de malte; PDA = pó de arroz; GRITS = *grits* de milho; FDT = fibra dietética total; FDI = fibra dietética insolúvel; FDS = fibra dietética solúvel, calculada por diferença entre as duas primeiras; *carboidratos calculados por diferença (100-proteínas-lipídeos-cinzas); IP_{6,5,4,3} = monômeros de mio-inositol fosfato; nd = não detectado.

De acordo com Mussatto et al. (2006), a composição do RUC é de aproximadamente 70% fibras e 20% proteínas, em base seca, apesar de haver variações entre RUCs provenientes de diferentes cervejarias, diferentes formulações de cervejas, diferentes processos, e compostos por diferentes frações de subprodutos (HUIGE, 2006). Os resultados encontrados neste projeto estão de acordo com o encontrado na literatura. Santos et al. (2003),

analisando diversos lotes de RUC provenientes de uma mesma cervejaria na Espanha, obtiveram uma média de 24,2% proteínas, 3,9% lipídeos e 3,4% cinzas para o RUC seco em estufa. Já Stojceska et al. (2008), analisando RUC de uma cervejaria na Inglaterra, obtiveram uma composição de 75% umidade, 4% cinzas, 19,2% proteínas, 64% fibras, 8,4% lipídeos, 4,58% carboidratos.

O perfil de fibra dietética encontrado para o RUC foi de 100% de fibras insolúveis (FDI), o que difere um pouco do encontrado na literatura, que indica em torno de 2,5% de fibras solúveis (FDS) nesse subproduto (MAKOWSKA et al., 2013; HUIGE, 2006). A atividade de água do RUC apresentou-se acima de 1,00, um resultado inesperado, que pode estar associado à presença de compostos de baixo peso molecular altamente voláteis.

O PDM apresentou uma composição rica em carboidratos (64,79%), como esperado, e uma quantidade expressiva de proteínas e fibras, 13,12% e 15,03%, respectivamente, provenientes das cascas de grãos encontradas neste subproduto. O PDA também apresentou uma composição rica em carboidratos (65,49%), com uma alta quantidade de proteínas e de fibras solúveis, 18,02% e 11,27%, respectivamente, o que nos surpreendeu. Tanto o PDA, quanto o PDM são obtidos a partir da aspiração de pós da tubulação, pós provenientes do atrito entre os grãos durante seu transporte, um do transporte de grãos de arroz (PDA) e outro dos grãos de malte (PDM).

Encontrou-se, neste estudo, um alto conteúdo de proteínas para o PDA, muito acima do esperado para um subproduto de arroz. Segundo Juliano (1993), farelo de arroz, que seria sua fração mais proteica, apresenta uma média de 11,3 a 14,9% de proteína bruta, assim, os quase 18% detectados foram uma surpresa. O perfil de fibras também foi inesperado, pois PDA apresentou uma alta quantidade de fibras dietéticas solúveis (11,27%) e apenas 0,95% de fibra insolúvel. Wen et al. (2017) relataram uma conversão de parte das fibras insolúveis do farelo de arroz em fibras solúveis devido à diminuição do tamanho de partículas. PDA apresenta-se como um pó muito fino, resultante da abrasão de grãos de arroz durante o seu transporte, o que pode parcialmente explicar esse resultado. Os 65,49% de carboidratos e menos de 10% de umidade do PDA o elegeram como um ingrediente promissor para ser utilizado como ingrediente amiláceo de baixa umidade no Delineamento B.

O *grits* de milho é o ingrediente que apresentou a maior quantidade de carboidratos (89,66%), dos quais se sabe que a maioria é amido, motivo pelo qual foi escolhido para compor os *blends* do Delineamento A. Além de carboidratos, ele apresentou 7,34% de proteínas e 2,63% de lipídeos. A quantidade de fibra dietética foi menor do que o

nível de detecção do método. Os resultados estão de acordo com o encontrado por Oliveira et al. (2015) e Anderson et al. (1970).

De acordo com Konietzny e Greiner (2003), a correta denominação de ácido fítico (AF) é ácido mio-inositol(1,2,3,4,5,6)hexacisfosfórico, o tipo de inositol fosfato (IP) mais presente na natureza. Seus sais, os fitatos, são amplamente encontrados na natureza, porém são mais conhecidos por atuarem como fatores anti-nutricionais em cereais e leguminosas, diminuindo a biodisponibilidade de minerais e formando complexos com proteínas. Dentre as formas com maior capacidade quelante estão mio-inositol(5,6), ou IP₅ e IP₆. Durante a germinação e o processamento de cereais, a ação de fitases leva à desfosforilação do ácido fítico em mio-inositol e inositol fosfato (IP₅ - IP₁), disponibilizando fosfato e outros minerais que poderiam estar quelados às moléculas de AF (GREINER, KONIETZNY, 2006; REBELLATO et al., 2017. OATWAY et al., 2001; LEHRFELD, 1994). Lehrfeld (1994), comparando o conteúdo de ácido fítico e dos monômeros decorrentes da ação enzimática em alguns cereais, encontraram maiores porcentagens de AF em farelo de arroz (7,6%) e menores em cevada (0,56%) e farinha de milho (0,1%). Em todos os cereais estudados, encontrou-se uma maior concentração das formas IP₆ e IP₅.

No presente estudo, em acordo com a literatura, verificou-se uma maior concentração de IP₆. Nota-se que PDA apresentou a maior concentração de IP₆, seguido pelo RUC. Apenas o RUC apresentou outras formas de mio-inositol fosfato, provavelmente decorrentes do processamento a altas temperaturas (LEHRFELD, 1994). De acordo com Kong e Lee (2010), o AF se concentra no farelo e na camada aleurona dos grãos, explicando porque GRITS não apresentou concentração detectável do mesmo. PDM, por apresentar uma menor proporção de farelo e da camada aleurona e uma maior de endosperma – menor quantidade de fibras e maior de amido, em relação ao RUC – apresentou menor concentração de AF.

5.1.2 Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas em menos de 24 h após o recebimento das matérias-primas, RUC e LEV foram mantidos sob refrigeração até o momento da análise, PDA, PDM e GRITS foram mantidos à temperatura ambiente.

A RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, da ANVISA, determina como limite máximo para “farelo e fibras de cereais, com ou sem mistura de farinhas, de outros produtos de cereais, com ou sem adições de outros ingredientes e similares”, categoria 10 L, na qual se

encaixam o RUC e o PDM, 5×10^3 *B. cereus*/g, 10^2 /g de coliformes termotolerantes e ausência de *Salmonella spp.* em 25 g de amostra. O *grits* de milho se encaixa na categoria 10 A, “amidos, farinhas, féculas e fubá, em pó ou flocados”, para o qual os limites de tolerância são 5×10^3 *B. cereus*/g, 5×10^2 de coliformes termotolerantes e ausência de *Salmonella spp.* Os resultados das análises microbiológicas estão expressos na Tabela 4.

Tabela 4 - Resultado das análises microbiológicas das matérias-primas

	RUC	LEV	PDM	GRITS	PDA
Contagem total (\log_{10} UFC/g)	5,94	nd	7,08	3,64	3,23
Esporos mesófilos (\log_{10} UFC/g)	3,2	nd	4,49	2,11	1,41
Esporos termófilos (\log_{10} UFC/10g)	2	nd	1,87	2,23	nd
Bolores e leveduras (\log_{10} UFC/g)	nd	7,45	6,23	2,7	1,42
Leveduras (\log_{10} UFC/g)	nd	7,45	5,74	2,6	0,7
Bolores (\log_{10} UFC/g)	nd	nd	6,08	nd	1,33
<i>Salmonella spp.</i> (em 25 g)	aus.	aus.	aus.	aus.	aus.
<i>Bacillus cereus</i> (\log_{10} UFC/10 g)	3,78	nd	5,11	nd	nd
Coliformes totais (NMP/g)	nd	nd	$>1,1 \times 10^5$	$9,2 \times 10^0$	$3,6 \times 10^0$
Coliformes termotolerantes (NMP/g)	nd	nd	nd	nd	$3,6 \times 10^0$

nd = não detectável – abaixo do limite de detecção do método; aus. = ausente; RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; PDM = pó de malte; PDA = pó de arroz; GRITS = *grits* de milho.

Bacillus cereus é uma bactéria naturalmente presente no solo, gram positiva, aeróbio-facultativa, que forma endósporos termodúricos, cresce em temperatura de refrigeração e está associada a duas doenças transmitidas por alimentos (DTA): síndrome diarreica, causada pela ingestão de 10^4 a 10^9 células de *B. cereus* por grama de alimento, os quais produzirão uma enterotoxina termolábil durante seu crescimento no intestino; e síndrome emética, causada pela ingestão da toxina termorresistente produzida no alimento por 10^5 a 10^8 células de *B. cereus* por grama do mesmo (TEWARI & ABDULLAH, 2015). Observa-se que a população de *B. cereus* para RUC e PDM foi superior à permitida, sendo neste último suficientemente alta para ser associada a DTAs.

O RUC, analisado no dia da coleta, apresentou valores altos de contagem total de bactérias mesófilas aeróbias, quando comparado com os resultados de Kotlar et al. (2011), que avaliaram três lotes de RUC proveniente de uma mistura de maltes na Argentina (2-3 \log_{10} CFU/g) e de Robertson et al. (2010a) que avaliaram o efeito do armazenamento em um lote de RUC no Reino Unido (2-3 \log_{10} CFU/g). Porém, Robertson et al. (2010b), avaliando

RUC proveniente de 10 cervejarias da União Europeia e África, encontraram valores iniciais de contagem total de bactérias mesófilas variando de 2,58 a 6,12 \log_{10} CFU/g, dependendo da cervejaria. Essa variação pode ser atribuída às condições de pós-processamento às quais o RUC foi submetido, embora o mesmo tenha sido coletado no dia da produção, tanto neste projeto, quanto nos artigos apresentados. O tempo em que o RUC ficou em contato com o ar na cervejaria e o tempo que levou para seu resfriamento foram prováveis fontes de variação da microbiota inicial. Além disso, é importante ressaltar que os estudos utilizados para comparação foram feitos em diferentes países, com diferentes condições climáticas, de solo, e, portanto, diferentes microrganismos.

Segundo Robertson et al. (2010b), espera-se encontrar no RUC uma população predominante de bactérias esporuladas, devido à temperatura da brassagem. Encontrou-se uma população de 10^3 CFU de esporos mesófilos/g e 10^2 CFU de esporos termófilos/g de RUC analisado. Já a população de fungos e leveduras foi menor do que o limite de detecção do método, diferindo dos resultados encontrados por Gonzalez Pereyra et al. (2011), que utilizaram diferentes meios de cultura para a análise de fungos e leveduras de amostras de RUC na Argentina, encontrando valores entre $9,00 \times 10^2$ e $1,00 \times 10^6$ CFU g^{-1} .

A LEV mostrou uma contagem alta de células de levedura, como esperado, e população não detectável pelos métodos utilizados para os outros grupos de microrganismos. Esse resultado é esperado devido ao processamento a altas temperaturas por um longo tempo do mosto antes da adição da levedura, presença de compostos antimicrobianos do lúpulo e concentração de álcool na cerveja, produzido pelas leveduras.

O PDM apresentou uma população microbiológica alta para todos os grupos presuntivos analisados, indicando uma pobre condição sanitária na obtenção deste subproduto. Para viabilizar seu uso como ingrediente para alimentação animal ou humana, seria recomendado implementar mudanças nas práticas utilizadas hoje na indústria para obtenção deste subproduto. Devido a essa alta carga microbiana, decidiu-se reduzir a quantidade desta matéria-prima nos *blends*, porém ainda utilizá-la para observar seu efeito nas propriedades físico-químicas e nutricionais dos extrusados.

O *grits* de milho apresentou uma população de mesófilos aeróbios na ordem de 10^3 , de esporos mesófilos e termófilos, e de fungos na ordem de 10^2 . É esperada para farinhas de cereais uma população predominante de esporos de fungos e bactérias, por serem produtos secos e estarem expostos a estes microrganismos no campo. Bothast et al. (1974) encontraram valores da mesma ordem para mesófilos aeróbios e fungos, porém uma contagem na ordem de

10¹ para esporos termófilos, analisando *grits* de milho em diferentes meses nos Estados Unidos.

O PDA apresentou uma baixa contagem de microrganismos para todos os grupos presuntivos testados, mostrando-se um subproduto promissor para reutilização como ingrediente em outros processos pelo critério microbiológico.

A Instrução Normativa 4/2007, do MAPA (BRASIL, 2007), determina que estabelecimentos que fabriquem produtos para alimentação animal “não devem aceitar nenhuma matéria-prima ou ingrediente que contenha parasitas, microrganismos, substâncias tóxicas ou estranhas, que não possam ser reduzidas a níveis aceitáveis na industrialização”. Apesar de não haver legislação especificando padrões microbiológicos para a alimentação de animais de pecuária, como gado e porcos, deve-se lembrar que alimentar animais é apenas um passo na alimentação das pessoas que irão consumi-los, podendo absorver tanto nutrientes e aditivos, quanto resíduos de pesticidas e microtoxinas.

O “Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal”, cuja última edição foi lançada em 2017, é uma obra de referência, produzida pelo Sindirações em parceria com o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) e instituições de pesquisa, voltado para produtores, indústrias, órgãos governamentais e universidades, compreendendo questões nutricionais, higiênico-sanitárias, legislativas, analíticas, entre outros. Com base nos compêndios e nas legislações brasileira e internacional, produtores de rações e produtores de animais de corte ou leiteiros podem e devem estabelecer critérios para assegurar a qualidade higiênico-sanitária de matérias-primas e rações visando tanto o bem-estar animal, quanto a segurança alimentar (COMPÊNDIO, 2017).

5.2 Caracterização dos Produtos Extrusados

5.2.1 Delineamento A

Para o Delineamento A, a umidade do RUC foi ajustada para 10%. A partir de então, definiram-se as faixas de variação dos componentes do delineamento, baseando-se em testes preliminares e na seguinte lógica: (i) utilizar o máximo possível de RUC, já que é o subproduto gerado em maior quantidade na indústria cervejeira – estabeleceu-se um mínimo de 40%; (ii) uma quantidade baixa de LEV, já que é o subproduto mais nobre e também o mais úmido entre os utilizados – definiu-se um mínimo de 10%; e, (iii) utilizar uma

quantidade baixa de GRITS, suficiente para tornar as misturas extrusáveis, uma vez que este não é um subproduto – definiu-se um mínimo de 20%.

Definidas as adições mínimas, utilizou-se a Equação 8 para a definição das L-pseudocomponentes, de acordo com Cornell (2002):

$$x'_i = \frac{x_i - L_i}{1 - L}$$

Equação 8

Onde x'_i é a L-pseudocomponente, x_i é a componente original do delineamento e L é a somatória dos limites inferiores das variáveis, $L = 0,4+0,1+0,2 = 0,7$. obtendo-se as Equações 9:

$$x'_1 = \frac{x_1 - 0,4}{0,3} \qquad x'_2 = \frac{x_2 - 0,1}{0,3} \qquad x'_3 = \frac{x_3 - 0,2}{0,3}$$

Equações 9

Utilizando-se as pseudocomponentes, gerou-se a matriz do delineamento no *software* MODDE PRO 12 (SARTORIUS, 2017). Porém, nas tabelas aqui apresentadas, decidiu-se por exibir os componentes reais, para sua melhor interpretação. Utilizou-se a Equação 10 para a conversão. O delineamento experimental contendo ambas as L-pseudocomponentes e as concentrações reais dos fatores está expresso na Tabela 1.

$$x_1 = L_i + (1 - L)x'_1$$

Equação 10

Os *blends* de RUC, LEV e GRITS compostos a partir do delineamento do Delineamento A – apresentaram teor de umidade variando de 15,46% (Ensaio 1) a 39,70% (Ensaio 2). O Ensaio 2, correspondente ao *blend* com maior umidade (39,70%), levou a dificuldades técnicas durante o seu processamento na extrusora, não atingindo um escoamento adequado pelo alimentador e mostrando-se ainda muito úmido na saída pela matriz.

A Figura 5 apresenta a foto dos produtos obtidos pela extrusão dos *blends* formulados a partir do delineamento de misturas. Os resultados da umidade dos *blends* e dos extrusados, juntamente à sua atividade de água e teor proteico, estão expostos na Tabela 5.

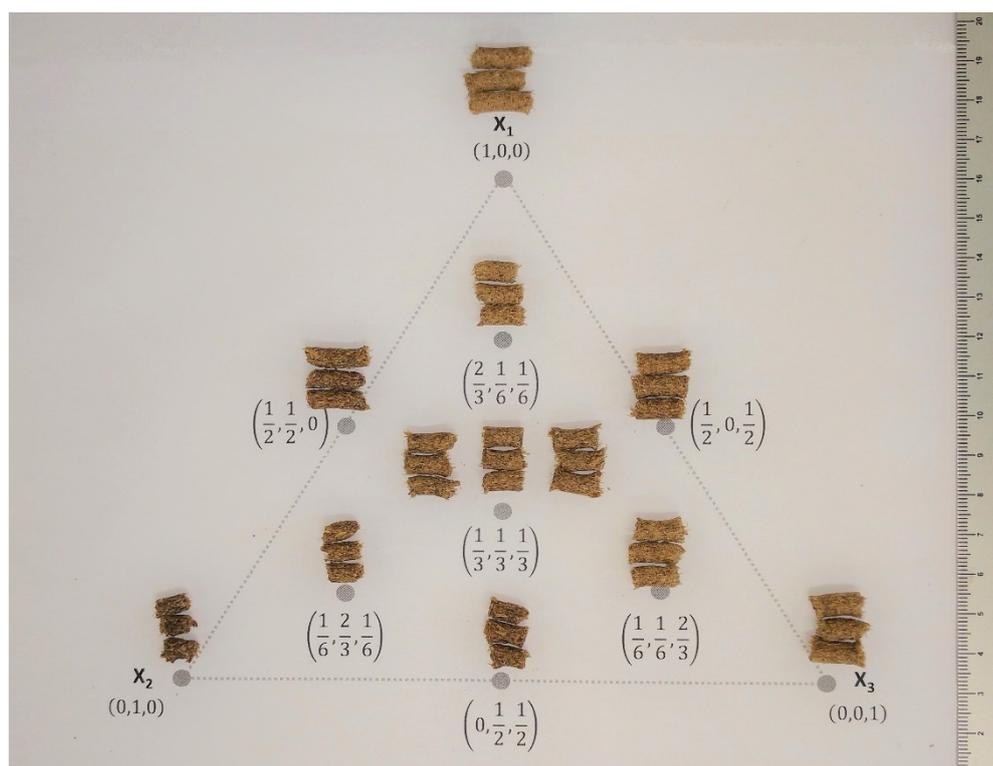


Figura 5 - Extrusados dispostos sobre o simplex do delineamento de misturas A

Tabela 5 - Umidade dos *blends*, umidade, atividade de água, teor proteico e vazão de alimentação dos produtos extrusados seguindo o delineamento de misturas

Ensaio	RUC	LEV	GRITS	Ublend (%)	Uúmido (%)	Useco (%)	Aw úmido	Awseco	Proteínas (%)	\dot{v}_{al} (kg/h)
1	0,70	0,10	0,20	15,46	09,66	06,55	0,6970	0,5046	16,71	9,22
2	0,40	0,40	0,20	39,70	31,70	20,45	-	0,9004	20,01	4,35
3	0,40	0,10	0,50	17,16	13,02	08,10	0,7754	0,5180	13,58	12,45
4	0,55	0,10	0,35	19,80	14,31	11,82	0,8320	0,6841	13,41	10,24
5	0,40	0,25	0,35	28,15	22,06	19,22	0,9404	0,8960	15,53	7,15
6	0,55	0,25	0,20	29,95	24,49	16,12	-	0,8419	16,92	5,81
7	0,60	0,15	0,25	19,24	12,44	09,37	0,7789	0,5834	16,30	9,78
8	0,45	0,30	0,25	31,39	25,75	17,94	0,9500	0,8617	17,41	6,63
9	0,45	0,15	0,40	20,68	14,52	09,55	0,8102	0,5687	14,74	10,57
10	0,50	0,20	0,30	24,78	19,15	04,93	0,9132	0,2761	15,88	6,77
11	0,50	0,20	0,30	23,51	17,83	04,65	0,8939	0,2971	15,70	9,41
12	0,50	0,20	0,30	23,91	18,44	05,59	0,8919	0,3340	15,90	8,17

RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; GRITS = *grits* de milho; Ublend = umidade dos *blends*; Uúmido = umidade dos extrusados antes da secagem em estufa; Useco = umidade dos extrusados após a secagem; Awúmido = atividade de água dos extrusados antes da secagem; Awseco = atividade de água dos extrusados após a secagem; Proteínas = teor proteico; \dot{v}_{al} = vazão de alimentação.

Ao sair da extrusora, os extrusados repousaram por, pelo menos, uma hora antes de serem embalados ou levados à estufa para secagem. A umidade dos extrusados úmidos,

antes de passarem pela secagem em estufa, variou de 9,66% (Ensaio 1) a 31,70% (Ensaio 2), um valor em média 5,86% menor que o da umidade dos *blends* (15,46 a 39,70%), o que significa que o processo de extrusão resultou em uma redução relativa média de 25,19% no teor de umidade.

Brennan et al. (2008b) compararam a perda de umidade de extrusados à base de farinha de trigo integral ou farinha de trigo *high ratio*, com 0 e 15% de substituição por fibra de trigo ou goma guar, encontrando diferenças significativas entre os extrusados de farinha integral (~30% de perda de umidade) e farinha *high ratio* (~27%) com 0% de substituição e os com adição de 15% fibras. Os extrusados à base de farinha de trigo integral com adição de fibra de trigo tiveram diminuição na perda de umidade, enquanto um aumento foi observado na substituição por goma guar. Já nos extrusados com farinha *high ratio* ambas as fibras provocaram aumento da perda da umidade. Brennan et al. (2008b) concluíram que a adição de polissacarídeos não amiláceos (PNAs) aumentou a quantidade de água “livre” nas amostras, uma vez que os PNAs competem com o amido e as proteínas pela água, conseguindo se ligar mais rapidamente a esta do que os outros dois. Porém, suas ligações são mais fracas e facilmente rompidas, em oposição às ligações formadas entre amido e água, o que explica a menor perda de água da farinha *high ratio* em relação à farinha integral.

A atividade de água (a_w) dos extrusados úmidos variou de 0,6970 a 0,9500, demonstrando a necessidade de secagem dos produtos para evitar a deterioração microbiológica no armazenamento à temperatura ambiente. Não foi possível medir a a_w dos Ensaios 2 e 6, pois estes mofaram antes da medida, que foi realizada posteriormente às outras, após a análise dos dados de umidade e a_w dos produtos secos.

Após a secagem em estufa, a umidade dos extrusados diminuiu para valores de 4,93% a 20,45%, enquanto a atividade de água caiu para 0,2761 a 0,9004, referentes aos Ensaios 11 e 2, respectivamente. Isto indica que, para parte dos produtos, a secagem a 80°C por 30 min não foi suficiente para diminuir a umidade e a atividade de água para níveis seguros, abaixo de 10% de umidade e de 0,6000 de a_w , valores indicados para produtos a serem armazenados a temperatura ambiente, pois esse é valor limite de atividade de água para crescimento microbiológico (FELLOWS, 2000). Estudos sobre os efeitos de variáveis de processo nas propriedades de extrusados indicam que um aumento na umidade causa aumento na dureza instrumental de extrusados, ligados a uma redução na expansão e um aumento na densidade (DING et al., 2006).

A redução média da umidade na estufa foi de 39,73% em relação à umidade dos extrusados úmidos, mas nota-se que a secagem em estufa não provocou uma redução homogênea da umidade entre os ensaios, houve uma variação de 13 a 74% em relação à umidade dos extrusados úmidos. Essa variação pode ser atribuída tanto às diferentes interações entre os componentes dos produtos e entre estes e a água, levando a diferentes taxas de perda de água, quanto a diferenças na transferência de calor dentro da estufa, referentes à posição e distribuição dos produtos nas bandejas e na estufa.

O único parâmetro nutricional avaliado nesta etapa foi o teor proteico, que variou de 13,41% (Ensaio 4) a 20,01% (Ensaio 2), teores condizentes com a composição dos *blends*. A vazão de alimentação dos *blends* apresentou uma grande variação, de 4,35 kg/h para o Ensaio 2, a 12,45 kg/h para o Ensaio 3, também entre as repetições do ponto referente ao centroide do delineamento, de 6,77 a 9,41 kg/h (coeficiente de variação de 16%). A vazão apresenta uma grande correlação com a U_{blend} ($r = -0,91$), diminuindo à medida que U_{blend} aumenta (Apêndice 1).

Foram avaliados seis parâmetros tecnológicos, cujos resultados estão expressos na Tabela 6: Dureza, expressa em Newtons (N); índice de expansão (IE); densidade aparente (Densidade), expressa em g/cm^3 ; índice de absorção de água (IAA), expresso em g/g; índice de solubilidade em água (ISA), expresso em porcentagem; e cor, com parâmetros L^* (luminosidade), a^* (coordenada vermelho/verde) e b^* (coordenada amarelo/azul). Esses parâmetros são importantes para avaliar quais as possíveis aplicações dos produtos.

Tabela 6 - Propriedades tecnológicas dos produtos extrusados seguindo o delineamento de misturas

Ensaio	RUC	LEV	GRITS	IE	Densidade (g/cm ³)	Dureza (N)	IAA (g/g)	ISA (%)	L*	a*	b*
1	0,70	0,10	0,20	1,05	0,80	54,00	5,36	2,21	49,79	7,62	21,77
2	0,40	0,40	0,20	0,94	0,78	97,34	4,93	3,30	46,43	7,00	21,53
3	0,40	0,10	0,50	1,15	0,93	113,58	5,28	2,70	55,34	7,59	23,03
4	0,55	0,10	0,35	1,10	0,94	138,69	5,66	2,38	53,17	8,03	22,58
5	0,40	0,25	0,35	1,02	0,76	76,72	5,81	2,03	47,68	7,27	20,21
6	0,55	0,25	0,20	1,02	0,72	84,58	5,49	2,86	46,29	7,16	20,80
7	0,60	0,15	0,25	1,05	0,83	94,02	4,76	2,76	52,71	7,74	22,64
8	0,45	0,30	0,25	1,03	0,73	100,39	5,86	2,97	57,19	7,43	23,46
9	0,45	0,15	0,40	1,09	0,89	115,03	5,75	2,66	53,25	7,63	22,97
10	0,50	0,20	0,30	1,01	0,79	92,35	5,51	3,22	51,85	7,52	22,61
11	0,50	0,20	0,30	1,01	0,81	96,08	5,87	3,05	50,71	7,59	22,45
12	0,50	0,20	0,30	1,05	0,82	96,04	5,76	2,80	50,46	7,49	22,64

RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; GRITS = *grits* de milho; IE = índice de expansão; IAA = índice de absorção de água; ISA = índice de solubilidade em água; L*, a* e b* = parâmetros de cor no sistema CIELab.

O índice de expansão (IE) dos extrusados foi próximo de 1,00 para todos os pontos do delineamento. O Ensaio 2, que possuía a maior umidade e o maior conteúdo proteico, apresentou o menor índice: 0,94, enquanto o Ensaio 3, com maior quantidade de *grits* de milho, apresentou o maior valor: 1,15. Sabe-se que a adição de fibras insolúveis a extrusados causa uma redução da expansão seccional ou lateral (ROBIN et al., 2012); esse efeito pode ser observado em diversos trabalhos que estudaram a adição de RUC a extrusados com diferentes bases, como farinha milho (AINSWORTH et al., 2007), *grits* de milho (MAKOWSKA et al., 2013), arroz e cevada (KIRJORANTA et al., 2016). Porém, o efeito na redução depende das condições do processo e do tipo de fibra e pode ser reduzido com a alteração de parâmetros, como o aumento da velocidade da rosca (AINSWORTH et al., 2007), a diminuição da umidade do *blend* (STOJCESKA et al., 2009), o aumento da energia mecânica (ROBIN et al., 2012), entre outros.

Steel et al. (2012) atribuem a diminuição da expansão pela adição de fibras a 3 (três) fatores: (i) impedimento estérico – partículas grandes e firmes atrapalham a expansão por ruptura do filme de amido e das células de ar; (ii) diluição do conteúdo de amido, que é o principal componente responsável pela plasticidade e porosidade adequada da massa, e, por isso, o principal responsável pela expansão; e (iii) maior retenção de água por essas partículas, diminuindo a perda de água na saída da matriz da extrusora e, por conseguinte, a expansão.

A densidade dos produtos variou de 0,72 a 0,94 g/cm³, valores apresentados respectivamente pelos Ensaios 6, com 0,55% de RUC, 0,25% de LEV e 0,20% de GRITS, e 4, com 0,55% de RUC, 0,10% de LEV e 0,35% de GRITS. Robin et al. (2012) verificaram que a densidade de extrusados normalmente aumenta com a adição de fibra insolúvel, visualmente levando a uma alta densidade de células de menor tamanho, apesar de essa relação também ser dependente das condições de processo e do tipo de fibra. Ainsworth (2007) observou o aumento de 0,20 a 0,89 g/cm³ na densidade em extrusados com adição de 0 a 30% RUC, utilizando uma velocidade da rosca de 100 rpm, enquanto uma variação menor foi obtida a 300 rpm (0,12 a 0,35 g/cm³), indicando a importância da otimização das condições de processo para a qualidade tecnológica de extrusados com adição de fibras.

A dureza dos produtos apresentou uma grande variação, de 54,00 N (Ensaio 1) a 138,69 N (Ensaio 4). De acordo com Robin et al. (2012), as propriedades mecânicas de produtos expandidos dependem tanto das propriedades da fase contínua, relacionadas às propriedades físico-químicas e à espessura da parede dos alvéolos, quanto às propriedades da fase dispersa, relacionadas à porosidade, tamanho, densidade e distribuição dos alvéolos. Normalmente a adição de fibras insolúveis leva ao aumento da quantidade de células de ar pequenas e ao aumento da espessura da parede celular, provocando o aumento da densidade dos extrusados e diminuição da expansão, formando uma estrutura com maior resistência à quebra ou maior dureza do produto.

Os valores encontrados foram muito altos quando comparados a outros estudos que utilizaram quantidades menores de RUC, até 30%. Ainsworth et al. (2007) encontram valores de 11,5 N (0% RUC/300 rpm) a 22,12 N (30% RUC/100 rpm), porém, foram valores dispersos e não puderam ser correlacionados à porcentagem de adição de RUC. Stojceska et al. (2008) encontraram os maiores valores de dureza para 30% de adição de RUC e 0% de amido, em substituição à farinha de trigo, variando de 23,3 N, para 150 rpm da rosca, a 33,2 N para uma velocidade de 350 rpm. Os autores comentam que, na maioria dos casos, uma alta dureza não é desejável para extrusados, entretanto, Nascimento et al. (2017) sugerem que a maior dureza pode ser contrabalanceada pelo apelo de alto teor de fibras, quando considerada a aceitação de seus *snacks*.

Os métodos de ISA e IAA foram desenvolvidos para avaliar a funcionalidade do amido após a extrusão. O IAA representa a quantidade de água absorvida pela amostra, sendo geralmente relacionada à sua absorção pelo amido gelatinizado, enquanto o ISA representa a porcentagem de moléculas solúveis em água, recuperadas após a evaporação do sobrenadante

da análise de absorção de água. O ISA está relacionado à severidade do processo e ao grau de degradação do amido, que leva à formação de moléculas menores e solúveis (dextrinização) (GUERREIRO, 2007; COLONNA et al., 1989; GUTKOSKI e EL DASH, 1999). Possivelmente, devido à baixa quantidade de amido e à alta quantidade de proteínas e fibras insolúveis na formulação dos extrusados, IAA e ISA apresentaram valores e variações baixas, de 4,93 a 5,86 g/g para o IAA e 2,03 a 3,30% para o ISA. Robin et al. (2012) afirmam que a adição de fibra de cereais em extrusados provoca a diminuição de suas propriedades de absorção e solubilidade em água.

A presença de fibras insolúveis atrapalha a gelatinização do amido, por sequestrar parte da água, resultando em menos água disponível para a sua gelatinização (ROBIN et al., 2012). Acesso restrito à água é um dos fatores descritos por Colonna et al. (1989) como redutores do IAA. Quanto às causas de redução do ISA, Colonna et al. (1989) citam a formação de complexos insolúveis lipídio-amilose. O RUC utilizado nesse estudo contém 13,58% de lipídeos, incluindo, de acordo com Fărcaş et al. (2014), triacilgliceróis, diacilgliceróis, ácidos graxos (palmítico, oleico e linoleico), esteróis e hidrocarbonetos. A formação destes complexos varia com o tipo de lipídeos, origem do amido, se o amido é puro ou fração de uma farinha e a quantidade de amilose (BHATTACHARYA et al., 1988; MERCIER et al., 1980; COLONNA et al., 1989).

Ainsworth et al. (2007) encontraram dados dispersos de ISA e IAA ao testar a adição de até 30% de RUC e diferentes velocidades da rosca na produção de *snacks* prontos para o consumo, ISA variou de 6,1 a 9,2%, e IAA, que apresentou certa tendência a diminuir com o aumento do RUC, variou de 4,4 g/g (50% RUC/300 rpm) a 6,9 g/g (0% RUC e 300 rpm). Stojceska et al. (2008) encontraram uma relação negativa ($r = -0,54$) entre o nível de RUC e o IAA, porém nenhuma relação significativa foi encontrada para ISA.

A cor dos extrusados foi medida pelo sistema CIELab e foram obtidos os seguintes valores: L* variando de 46,29 a 55,34, a* de 7,00 a 7,63, e b* de 20,80 a 23,46. Trabalhos envolvendo a adição de RUC a extrusados encontraram uma diminuição da luminosidade com o aumento do RUC (AINSWORTH et al., 2007; STOJCESKA et al., 2008). Além disso, produtos com menor expansão, ou seja, com maior densidade de pequenas bolhas de ar, resultam em menor luminosidade.

As respostas cujos modelos foram significativos pela análise de variância, ANOVA, a partir da regressão PLS, foram: umidade dos *blends* (U_{blend}), umidade dos extrusados úmidos ($U_{úmido}$), vazão de alimentação (v_{al}), índice de expansão (IE), densidade,

textura instrumental (Dureza) e conteúdo de proteínas (Proteínas), porém, este último apresentou falta de ajuste significativa a 5%. A Tabela 7 apresenta os coeficientes do PLS, centralizados e escalonados, e alguns outros dados estatísticos do modelo. A mistura de referência para todas as respostas é RUC 0,5, LEV 0,2 e PDM 0,3.

Tabela 7 - Coeficientes da regressão PLS para os termos dos modelos de cada resposta e outros dados estatísticos

	<i>Ublend</i>	Uúmido	Proteínas	\acute{v}_{al}	IE	Densidade	Dureza
Constante	1,37379	18,6142	15,526	0,95919	1,04167	0,80968*	100,866
RUC	-0,02668	-1,50143	0,36483*	0,00665	-0,00080*	0,11958	51,165
LEV	0,09238	5,04539	0,61016	-0,07897	-0,03296	0,05024	33,905
GRITS	-0,01712	-0,86122*	-1,15611	0,04155	0,02332	0,15899*	58,057
RUC*RUC							
LEV*LEV						0,02564	
GRITS*GRITS			0,29908*				
RUC*LEV			0,45335*				
RUC*GRITS						0,0286	18,766
LEV*GRITS							-9,39167
Transformação da resposta				10Log (Y+1)			
GL	9	9	7	9	9	7	7
Q²	0,785	0,865	0,835	0,841	0,689	0,638	0,753
R²	0,942	0,946	0,943	0,898	0,844	0,958	0,93
R²_{ajs}	0,929	0,934	0,910	0,875	0,81	0,923	0,889
RSD	0,0314	1,65	0,5263	0,0401	0,0232	0,0195	6,94
Número de condicionamento	1,732	1,732	3,115	1,732	1,732	3,09	3,09
Número de componentes PLS	1	1	1	1	1	4	3
p - valor da falta de ajuste	0,103	0,119	0,031**	0,944	0,179	0,515	0,067

*Coeficientes não significativos a um nível de confiança de 95%; *Ublend* = umidade dos *blends*, Uúmido = umidade dos extrusados úmidos, \acute{v}_{al} = vazão de alimentação; IE = índice de expansão; RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; GRITS = *grits* de milho; GL = graus de liberdade; R² = coeficiente de explicação do modelo; Q² = coeficiente de predição do modelo; R²_{ajs} = R² ajustado pelos graus de liberdade do modelo; RSD = desvio padrão do resíduo; ** probabilidade de falta de ajuste significativa a 95% de nível confiança – modelo apresenta falta de ajuste.

A regressão PLS para a umidade dos *blends* resultou em 1 (um) componente PLS explicando 94,2% da variação da reposta (R²), e 78,5% da predição da resposta (Q²). O modelo linear foi esperado nessa resposta, pois ainda não houve interação entre os componentes do *blend*. O aumento da LEV leva ao aumento da umidade e o inverso ocorre para o aumento dos outros dois componentes, como pode ser observado na Figura 6.

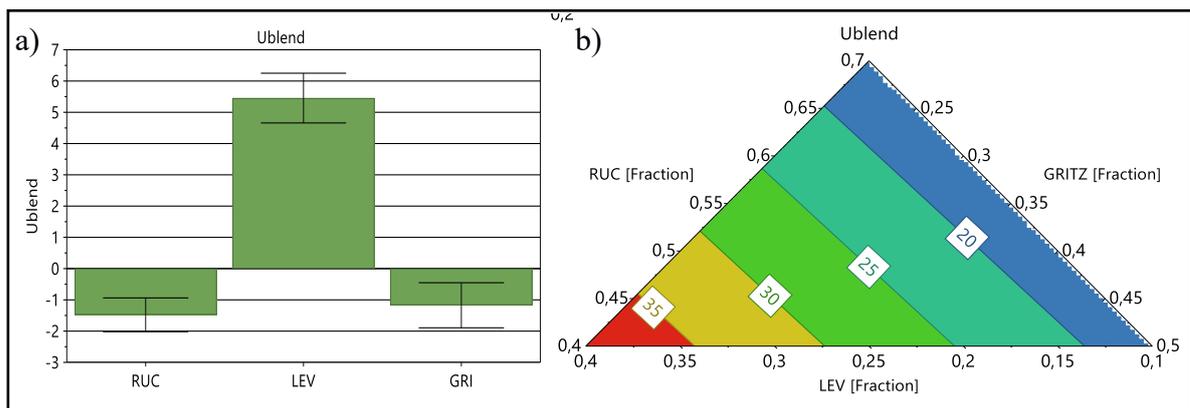


Figura 6 - Coeficientes de regressão do modelo de umidade dos *blends* com seus desvios padrões e gráfico de contorno da superfície de resposta da *Ublend*

RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; GRITS = *grits* de milho; no gráfico de contorno da superfície de resposta, cores mais frias (azul) representam valores menores, enquanto cores mais quentes (vermelho) representam valores maiores.

A regressão PLS para a umidade dos extrusados úmidos (Uúmido) resultou em 1 (um) componente PLS explicando 94,6% da variação da reposta (R^2), e 86,5% da predição da resposta (Q^2). A Figura 7 mostra que o aumento da porcentagem de levedura leva a um aumento pronunciado na umidade dos extrusados, uma vez que esse é o componente da mistura com maior umidade, enquanto o aumento de GRITS ou RUC diminui a umidade.

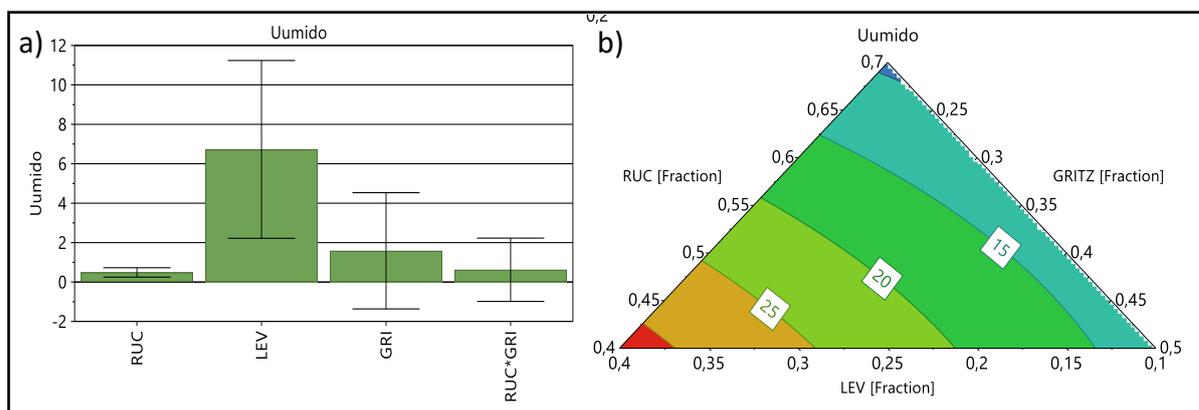


Figura 7 - Coeficientes de regressão do modelo da umidade dos extrusados úmidos com seus desvios padrões e gráfico de contorno da superfície de resposta

RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; GRITS = *grits* de milho; no gráfico de contorno da superfície de resposta, cores mais frias (azul) representam valores menores, enquanto cores mais quentes (vermelho) representam valores maiores.

A regressão PLS para o teor proteico resultou em 4 (quatro) componentes PLS explicando 94,3% da variação da resposta (R^2), e 83,5% da predição da resposta (Q^2). Observando-se a Figura 8, nota-se que para maximizar o teor proteico dos extrusados deve-se aumentar o teor de LEV e diminuir o teor de GRITS.

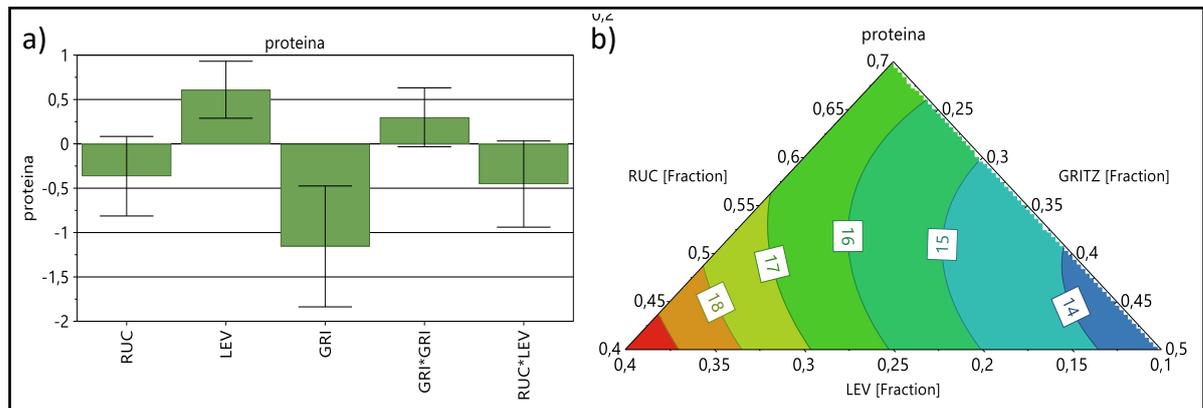


Figura 8 - Coeficientes de regressão do modelo de teor proteico com seus desvios padrões (a) e gráfico de contorno da superfície de resposta (b)

RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; GRITS = *grits* de milho; no gráfico de contorno da superfície de resposta, cores mais frias (azul) representam valores menores, enquanto cores mais quentes (vermelho) representam valores maiores.

A regressão PLS para a vazão de alimentação resultou em 1 (um) componente PLS explicando 89,8% da variação da resposta (R^2), e 84,1% da predição da resposta (Q^2). Analisando-se a Figura 9, nota-se que LEV apresenta a maior influência sobre essa resposta, o aumento de sua adição confere a diminuição da vazão.

Por outro lado, o aumento da adição de GRITS leva ao aumento da vazão de alimentação. Este parâmetro está altamente correlacionado com a *Ublend* ($r = -0,92$), *blends* com maiores umidades terão menores vazões de alimentação, considerando a mesma velocidade da rosca do alimentador. A vazão de alimentação mostrou grande influência sobre todos os parâmetros avaliados, com exceção da dureza, apresentando coeficientes de correlação (positivos ou negativos) acima de 0,78 com densidade, proteínas, IE, Uúmido, LEV e *Ublend*, em ordem crescente de correlação, despontando como um parâmetro extremamente importante de ser avaliado e controlado (Apêndice 1).

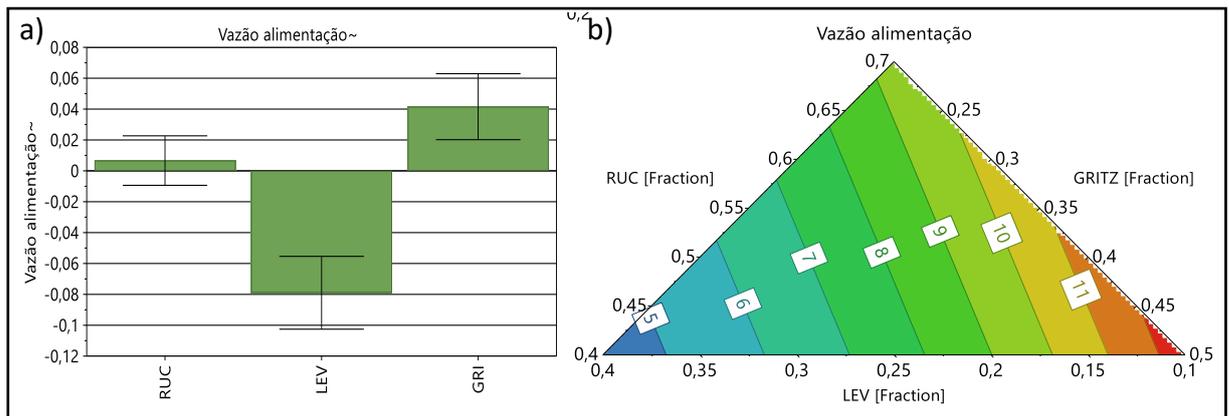


Figura 9 - Coeficientes de regressão do modelo de vazão de alimentação com seus desvios padrões e gráfico de contorno da superfície de resposta

RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; GRITS = *grits* de milho; no gráfico de contorno da superfície de resposta, cores mais frias (azul) representam valores menores, enquanto cores mais quentes (vermelho) representam valores maiores.

A regressão PLS para o IE resultou em 1 (um) componente PLS explicando 84,4% da variação da resposta (R^2), e 68,9% da predição da resposta (Q^2). Observa-se, na Figura 10, que LEV tem efeito negativo sobre o IE, contribuindo com uma alta carga de umidade, fibras e proteínas, enquanto GRITS tem efeito positivo, contribuindo com amido, principal responsável pela expansão de produtos extrusados. Os mais altos coeficientes de correlação foram obtidos para teor de proteínas ($r = -0,86$) e vazão de alimentação ($r = 0,88$) (Apêndice 1).

No presente projeto também foi observada uma relação inversa entre IE e *Ublend* ($r = -0,78$) (Apêndice 1). De acordo com Colonna et al. (1989), essa é uma correlação comumente encontrada em cereais extrusados prontos para o consumo. A umidade dos *blends* apresenta grande influência sobre as propriedades viscoelásticas da massa, devido ao alto efeito plastificante da água, que resulta em menor energia mecânica específica no sistema e, assim, menor gelatinização do amido, resultando em menor expansão e maior densidade dos extrusados (DING et al., 2006). Stojceska et al. (2009) encontraram para farinha de trigo e farinha de milho com substituição de 10% de RUC uma expansão máxima a 12% de umidade, enquanto a mínima expansão foi obtida a 16% para farinha de trigo e 17% para farinha de milho, diferenças atribuídas às diferentes porcentagens de amilose e proteínas entre as farinhas.

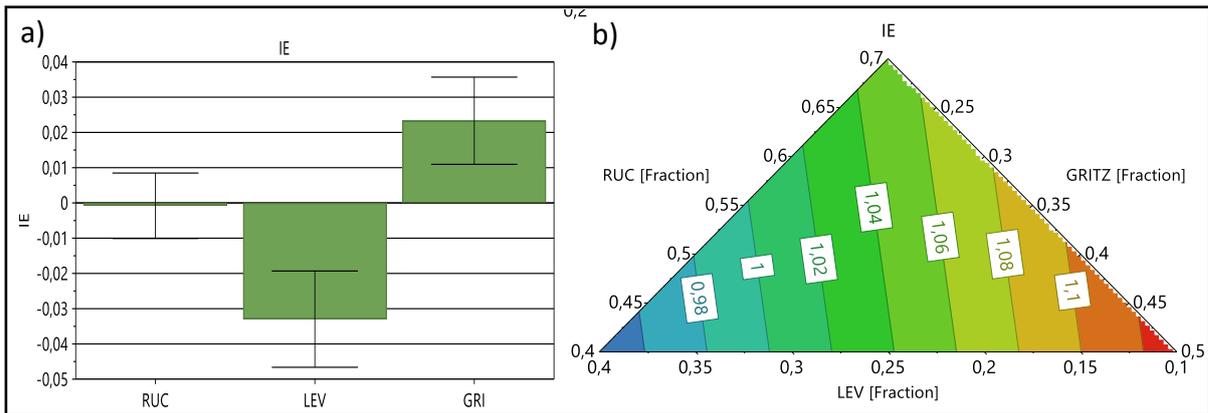


Figura 10 - Coeficientes de regressão do modelo de IE com seus desvios padrões (a) e gráfico de contorno da superfície de resposta (b)

RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; GRITS = *grits* de milho; no gráfico de contorno da superfície de resposta, cores mais frias (azul) representam valores menores, enquanto cores mais quentes (vermelho) representam valores maiores.

A regressão PLS para densidade resultou em 4 (quatro) componentes PLS explicando 95,8% da variação da resposta (R^2), e 63,8% da predição da resposta (Q^2). O efeito dos coeficientes do modelo gerado foi pequeno para todos os coeficientes, como pode ser observado na Figura 11, e o coeficiente do GRITS apresentou um desvio padrão bem alto. Os valores de densidade foram menores para maiores quantidades de LEV e RUC, cuja explicação está na correlação entre densidade e vazão de alimentação dos *blends*, $r = 0,78$ (Apêndice 1). A uma mesma velocidade de alimentação na extrusora e mesma velocidade da rosca, *blends* mais úmidos, com menores quantidades de GRITS e maiores de LEV resultaram em vazões de alimentação menores e, por conseguinte, vazões de saída menores, produzindo extrusados com menor densidade.

Ao contrário do esperado, a relação entre Densidade e IE não foi inversa, a relação foi positiva, com $r = 0,77$. Isso ocorreu porque a vazão de alimentação não foi a mesma para todos os *blends*, assim, em vez de produtos com maior expansão apresentarem menor densidade, esses produtos, que foram aqueles com maiores quantidades de GRITS e menores de LEV, apresentaram maiores vazões de alimentação e, com mesma velocidade da rosca, maiores vazões de saída, formando produtos com maior densidade (maior massa). Por outro lado, os produtos com maior quantidade de LEV e maior umidade apresentaram menores vazões e, conseqüentemente, menor massa por unidade de volume (menor densidade), apesar de uma menor expansão.

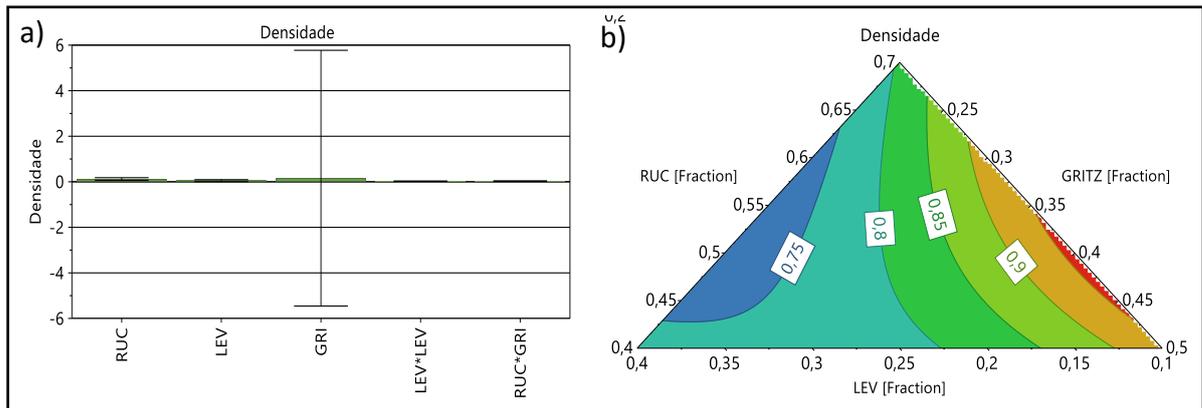


Figura 11 - Coeficientes de regressão do modelo de densidade aparente com seus desvios padrões e gráfico de contorno da superfície de resposta

RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; GRITS = *grits* de milho; no gráfico de contorno da superfície de resposta, cores mais frias (azul) representam valores menores, enquanto cores mais quentes (vermelho) representam valores maiores.

A regressão PLS para a resposta dureza resultou em 3 (três) componentes PLS explicando 93% da variação da resposta (R^2) e 75,3% da variação da predição da resposta (Q^2). A partir da Figura 12, nota-se que tanto os componentes da mistura, quanto a interação entre RUC e GRITS e entre LEV e GRITS influenciaram a dureza dos extrusados, apenas este último produzindo um efeito negativo. O gráfico de contorno mostra que os menores valores de dureza, dentro da região estudada, foram obtidos para porcentagens de adição máximas de RUC e mínimas dos outros componentes, possivelmente pela estrutura mais frágil e quebradiça de uma massa muito rica em fibras e muito pobre em amido, sem coesão. Já os valores máximos foram obtidos para mínimas adições de RUC e LEV, e intermediárias de GRITS (0,33 a 0,45).

Em estudos com menores adições de RUC, por outro lado, Stojceska et al. (2008) encontraram uma relação significativa entre o aumento da quantidade de amido de milho em extrusados contendo 0 a 30% de RUC e a diminuição da dureza, da mesma forma que Nascimento et al. (2017) obtiveram maiores valores de dureza com o aumento da substituição de RUC (0-30%) em farinha de arroz, enquanto Ainsworth et al. (2007) não encontraram relação significativa entre a adição de RUC em farinha de milho e a dureza.

A dureza apresentou baixa correlação linear com maioria dos outros parâmetros (Apêndice 1), talvez por seu modelo ser composto por termos de interação, enquanto a maioria dos outros é linear. Com a densidade, porém, apresentou uma correlação positiva, com $r = 0,66$, indicando que, em geral, produtos com maior densidade apresentaram maiores valores de dureza. Kjorantha et al. (2016) encontraram uma correlação negativa entre a

expansão e a dureza para extrusados compostos por cevada, RUC (10%) e proteína isolada de soro, com ou sem adição de amido de milho e amido ceroso de milho. Ding et al. (2006) sugerem uma relação entre umidade de alimentação, temperatura, densidade, expansão e dureza, baseada da viscosidade da massa fundida dentro da extrusora, em que uma maior viscosidade favoreceria a expansão, uma menor densidade e uma textura mais macia.

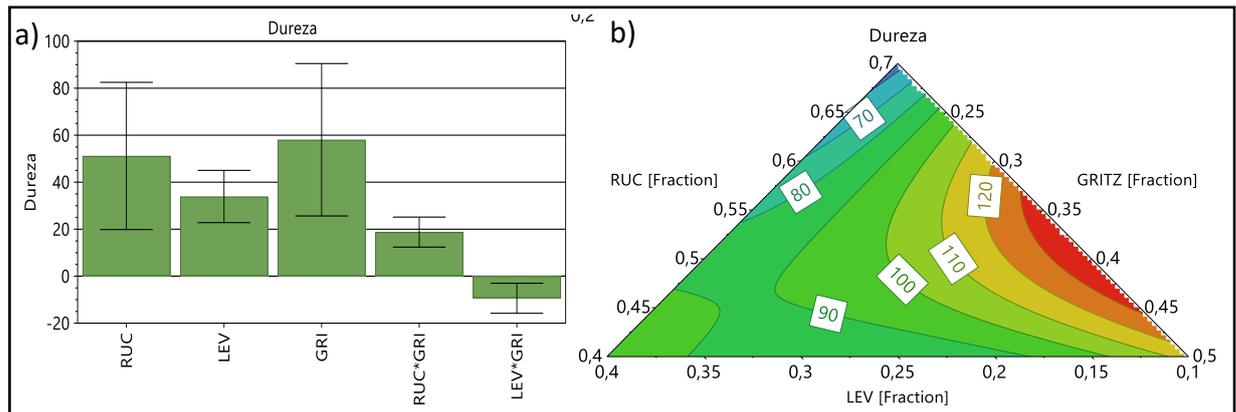


Figura 12 - Coeficientes de regressão do modelo de dureza com seus desvios padrões (a) e gráfico de contorno da superfície de resposta (b)

RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; GRITS = *grits* de milho; no gráfico de contorno da superfície de resposta, cores mais frias (azul) representam valores menores, enquanto cores mais quentes (vermelho) representam valores maiores.

5.2.1.1 Otimização

A partir dos parâmetros que apresentaram modelos significativos, foi realizada a otimização do produto, também realizada no *software* MODDE PRO 12. Os critérios definidos para a otimização encontram-se na Tabela 8.

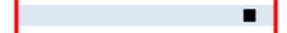
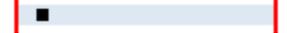
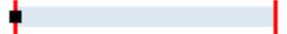
Tabela 8 - Critérios para a otimização

Resposta	Critério	Mín.	Target	Máx.	Mín. Predito	Máx. Predito	Gráfico
Ublend	Target	16,4753	20	25	16,4753	39,4686	
Uúmido	Minimizar		8,11701	10,415	9,266	32,2459	
Proteínas	Maximizar	19	20,3511		13,6054	20,0299	
\hat{v}_{al}	Predito				4,38638	12,5213	
IE	Predito				0,94389	1,13056	
Densidade	Minimizar		0,70664	0,72965	0,71728	0,96179	
Dureza	Minimizar		50,9638	70	54,9766	139,204	

Ublend = umidade dos blends; Uúmido = umidade dos extrusados antes da secagem em estufa; \hat{v}_{al} = vazão de alimentação; IE = índice de expansão; dureza = parâmetro da textura instrumental; Min, Target, Max = objetivos da otimização, representando os valores mínimos, alvo e máximo a serem utilizados na função desejabilidade; Min. Predito e Max. Predito = valores mínimos e máximos preditos pelo modelo de cada variável.

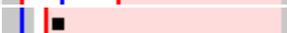
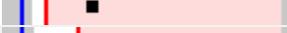
O programa procura, a partir de funções de desejabilidade para cada resposta (dk), encontrar resultados dentro dos critérios estabelecidos e o mais próximo possível dos objetivos (*target*) de todas as respostas, gerando uma função de desejabilidade geral ($f(ds)$). Essa função é também expressa em “distância normalizada do *target*” (D) e o ponto escolhido será aquele com menor $\log(D)$, ou seja, o que gera os valores calculados, através dos modelos de cada resposta, o mais próximo possível dos valores desejados (SARTORIUS, 2017). O ponto escolhido e a contribuição de cada fator estão ilustrados na Tabela 9; as previsões das respostas, com seus respectivos $\log(D)$ e probabilidade de fracasso estão expressas na Tabela 10.

Tabela 9 - *Setpoint* escolhido a partir da otimização do Delineamento A

Fator	Valor	Gráfico	Contribuição do fator
RUC	0,67		20,5581
LEV	0,13		29,9418
GRITS	0,2		49,5001

RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; GRITS = *grits* de milho.

Tabela 10 - Valores de resposta preditos para o *setpoint* escolhido

Resposta	Critério	Valor	Gráfico	$\log(D)$	Probabilidade de fracasso
<i>Ublend</i>	<i>Target</i>	18,7746		-0,917688	1,3%
U úmido	Minimizar	11,564		0,352184	
Proteínas	Maximizar	16,6707		0,870415	
\hat{v}_{al}	Predito	8,70211			
IE	Predito	1,03989			
Densidade	Minimizar	0,77572		0,954983	
Dureza	Minimizar	59,5765		-0,688882	4,6%

Ublend = umidade dos *blends*; Uúmido = umidade dos extrusados antes da secagem em estufa; \hat{v}_{al} = vazão de alimentação; IE = índice de expansão; dureza = parâmetro da textura instrumental; $\log(D)$ = log da distância normalizada do *target* (objetivo).

Seguindo as proporções definidas pelo *setpoint*, seguiu-se com a extrusão, em triplicata, dos Otimizados A. A extrusão foi conduzida nas mesmas condições de processo definidas para o delineamento experimental (os valores encontram-se na tabela 11), juntamente à vazão de alimentação e à energia mecânica específica (EME) derivadas do processo:

Tabela 11 - Parâmetros de extrusão – Otimizados A

Temperatura nas zonas (°C)				Velocidade de alimentação (rpm)	Vazão de alimentação (kg/h)	Velocidade da rosca (rpm)	Torque (%)	EME (kWh/kg)
T1	T2	T3	T4					
45	60	80	110	250	8,34±0,31	392	22	82,91±6,85

T1, T2, T3 e T4 representam a temperatura em cada uma das zonas da extrusora, da zona de alimentação (Z1) à zona de saída (Z4); EME = energia mecânica específica.

O valor previsto na otimização para vazão de alimentação foi de 8,70, portanto, o valor obtido encontra-se dentro do intervalo de confiança (95%) da predição. Os produtos otimizados foram analisados quanto à sua composição centesimal, incluindo os conteúdos de fibra alimentar total e insolúvel; aos parâmetros tecnológicos atividade de água, índice de expansão, densidade aparente, dureza instrumental, cor instrumental (CIELab), ISA e IAA, e propriedades de pasta (RVA); aos parâmetros nutricionais e digestibilidade *in vitro* de proteínas; e à qualidade microbiológica.

A Tabela 12 apresenta os valores preditos pelo *software* MODDE PRO 12 (SARTORIUS, 2017), incluindo os limites inferiores e superiores em um intervalo de confiança de 95%, os valores reais encontrados e seus respectivos desvios padrões e coeficientes de variação.

Tabela 12 - Valores preditos e reais das respostas utilizadas na otimização

	Valor predito pelo modelo			Valor experimental		
	Valor Predito	Limite inferior	Limite superior	Média	Desvio padrão	Coefficiente de variação
IE	1,04	1,01	1,07	1,13	0,06	4,87
Úmido (%)	11,56	8,43	14,69	8,90	0,16	1,78
Dureza (N)	59,58	47,14	72,01	21,18	4,49	21,19*
Densidade (g/cm³)	0,78	0,75	0,80	0,33	0,07	21,53*
Proteínas (%)	16,67	15,79	17,59	16,23	0,27	1,67
Ublend (%)	18,77	16,82	20,73	14,98	1,12	7,48

*Coeficiente de variação maior que 10%; IE = índice de expansão; Úmido = umidade dos extrusados antes da secagem em estufa; Dureza = parâmetro da textura instrumental; Ublend = umidade dos *blends*.

Nota-se que apenas o teor de proteínas e a umidade dos extrusados úmidos encontram-se dentro dos valores preditos. A diferença entre a umidade do *blend* predita e a real pode ter ocorrido devido à obtenção de um modelo estatístico insatisfatório, uma vez que

o *setpoint* (RUC 0,67, LEV 0,13, GRITS 0,20) assemelha-se ao Ensaio 1 do delineamento experimental (RUC 0,70, LEV 0,10, GRITS 0,20), e este apresentou uma *Ublend* de 16,71%.

No período entre a extrusão dos *blends* do delineamento e a extrusão dos produtos otimizados, as peças que compõem o eixo da extrusora passaram por alguns reparos, o que teve grande influência nas propriedades tecnológicas dos produtos. As modificações foram responsáveis por um aumento na EME do sistema, verificado pela diferença entre o valor encontrado para o Ensaio 1 do delineamento experimental, de 62 kJ/kg, e o valor encontrado para os produtos otimizados, de 83 kJ/kg. Os extrusados apresentaram-se ocós e quebradiços na saída pela matriz, como pode ser observado na Figura 13, e sua fragilidade levou a valores de dureza muito abaixo do esperado. Assim, a avaliação do modelo estatístico ficou comprometida, sendo possível apenas avaliar o modelo para os teores de umidade e de proteínas.



Figura 13 - Fotografia dos extrusados otimizados – Delineamento A

Conclui-se que diversos fatores podem ter levado às grandes diferenças entre os valores preditos pelo modelo estatístico e os valores obtidos: (i) proporções baixas de água e de amido na formulação, levando a uma massa fibrosa, com baixa adesão e coesão, e a extrusados frágeis e ocós; (ii) alterações em peças fundamentais da extrusora, alterando o atrito gerado pelo sistema e a pressão na saída pela matriz; e (iii) modelos estatísticos não satisfatórios.

A Figura 14 exibe a imagem da secção transversal dos produtos otimizados, e é possível notar seu interior oco e estrutura fibrosa.



Figura 14 - Imagem da secção transversal dos extrusados – Delineamento A

5.2.1.1.1 *Propriedades nutricionais dos produtos otimizados*

A Tabela 13 apresenta os valores da composição centesimal e sua comparação com os valores estimados, calculados a partir da composição centesimal das matérias-primas, sendo possível observar a influência do processo de extrusão na composição dos extrusados.

Tabela 13 - Valores obtidos e estimados para a composição centesimal dos extrusados

	Valor obtido	Valor estimado	Valor previsto
U blend (% b.s.)	14,98 ± 1,12	14,73	18,77
U úmido* (% b.s.)	8,90 ± 0,16	9,36	-
U seco* (% b.s.)	4,86 ± 1,08	6,35	-
Proteínas (% b.s.)	16,23 ± 0,27	16,76	16,67
FDT (% b.s.)	44,57 ± 2,03	42,41	-
FDI (% b.s.)	42,18 ± 1,67	41,23	-
FDS (% b.s.)	2,46 ± 2,05	0,16	-
Carboidratos** (% b.s.)	26,10 ± 3,71	26,60	-
Lipídeos (% b.s.)	10,20 ± 2,81	11,07	-
Cinzas (% b.s.)	2,89 ± 0,12	3,16	-
Mio-inositol fosfato			
IP₆ (µmol/g)	8,27 ± 0,85	8,41	-
IP₅ (µmol/g)	1,41 ± 0,15	1,10	-
IP₄ (µmol/g)	0,35 ± 0,06	0,24	-
IP₃ (µmol/g)	0	0	-

Valores expressos em média ± desvio padrão; b.s. = base seca; Ublend = umidade dos blends; Uúmido = umidade dos extrusados antes da secagem em estufa; Useco = umidade dos extrusados após a secagem; FDT = fibra dietética total; FDI = fibra dietética insolúvel; FDS = fibra dietética solúvel, calculada por diferença entre FDT e FDI; IP_{6,5,4,3} = monômeros de mio-inositol fosfato; *estimativas baseadas na redução de umidade obtido na extrusão e secagem do Ensaio 1 do delineamento; ** calculado por diferença, em base seca (100-proteínas-lipídeos-FDT-cinzas); valor estimado = valor calculado com base na composição centesimal das matérias-primas; valor previsto = valor calculado pelo software MODDE PRO 12, a partir do modelo estatístico.

O alto conteúdo de lipídeos dos extrusados provém da alta proporção de RUC, o qual apresentou 13,3% de lipídeos, em base seca. Conteúdos de lipídeos acima de 5% na

amostra levam à redução do índice de expansão devido a seu efeito lubrificante, que leva à redução da EME. Por outro lado, certo nível de lipídeos na amostra tem efeito positivo em suas propriedades mecânicas. Diversos trabalhos falam sobre a formação de complexos lipídeo-amido, mais especificamente lipídeo-amilose, durante a extrusão. Esses complexos são formados em variada extensão, dependendo da fonte e do tipo de lipídeo, energia térmica e energia mecânica empregadas no processo (STEEL et al., 2012; CHEFTEL, 1985; NASCIMENTO et al., 2017; BHATTACHARYA e HANNA, 1988).

Nota-se que o conteúdo de lipídeos no extrusado é um pouco menor do que o calculado, provavelmente devido à formação de complexos lipídeo-amilose, que apenas são detectados pelo método de extração ácida de extrato etéreo, ou lipídeo-proteína, sobre o qual pouco se sabe (NASCIMENTO et al., 2017; BHATTACHARYA et al., 1988).

O produto apresentou um alto teor de fibra dietética total, relacionado, principalmente, ao alto teor de RUC. O RUC contribuiu exclusivamente com fibra insolúvel, enquanto a LEV contribuiu com um pouco de fibras solúveis e insolúveis. Sabe-se que a extrusão modifica a natureza das fibras dietéticas, provocando uma redistribuição de fibras solúveis e insolúveis e formando novos compostos contabilizados como fibra, modificações dependentes do tipo de fibra, teor de umidade, energia mecânica e energia térmica empregada (ROBIN, 2012; VASANTHAN et al. 2002).

Vasanthan et al. (2002) estudaram o efeito da extrusão termoplástica no perfil de fibra dietética de duas variedades de cevada, encontrando, em geral, aumento de FDT e FDS após a extrusão. Os autores sugerem que o aumento na FDS pode ser parcialmente explicado pela diminuição na FDI e parcialmente pela transformação e complexação de outros compostos em FDS, como a formação de glucanas não-digeríveis. O aumento da FDT foi atribuído tanto ao aumento da FDS quanto ao aumento da FDI, em uma das variedades, provavelmente devido à formação de amido resistente. No presente trabalho, notou-se um aumento de todas as frações de fibras dietéticas, FDT, FDI e FDS. Esse aumento pode ter ocorrido tanto pela solubilização de fibras insolúveis, quanto pela formação de complexos lipídeo-amilose e formação de amido resistente (BJÖRK e ASP, 1983; STEEL et al., 2012; VASANTHAN et al., 2002).

O alto conteúdo de fibras também pode ser relacionado à baixa expansão seccional dos extrusados. Robin et al. (2012) sugerem que há pouca interação entre as fibras insolúveis e a água, por sua hidrofobicidade, diminuindo a viscosidade de pasta na saída da extrusora, o que levaria a uma menor expansão e maior dureza. Além disso, os autores

sugerem que a interação com as fibras alteraria o nível de transformação do amido dentro da extrusora, afetando o seu grau de gelatinização e também as propriedades finais dos extrusados. Já no caso de fibras solúveis, diferentes resultados e interações ocorrem entre diferentes tipos de amido e diferentes tipos de fibra solúvel, não sendo possível tirar conclusões gerais.

O conteúdo de fitatos encontrado foi similar ao calculado, indicando que o processo de extrusão não causa grandes modificações nestes compostos, o que está de acordo com o encontrado por Stojceska (2008, 2009).

5.2.1.1.2 Propriedades tecnológicas dos produtos otimizados

A Tabela 14 apresenta a atividade de água e os parâmetros tecnológicos analisados.

Tabela 14 - Parâmetros tecnológicos dos produtos otimizados

Parâmetro	Valor	Parâmetro	Valor
Awblend	0,4939±0,0449	IAA (g/g)	4,77±0,0762
Awúmido	0,4560±0,0166	ISA (%)	3,18±0,1162
Awseco	0,3067±0,0068	L*	53,31±0,95
Dureza (N)	21,17±4,4864*	a*	7,72±0,13
IE	1,13±0,06	b*	23,55±0,32
Densidade (g/cm³)	0,33±0,0716*		

Apresentaram coeficiente de variação acima de 10%; Awblend = atividade de água dos blends; Awúmido = atividade de água dos extrusados antes da secagem em estufa; Awseco = atividade de água dos extrusados após a secagem; IE = índice de expansão; IAA = índice de absorção de água; ISA = índice de solubilidade em água; L, a* e b* = parâmetros de cor no sistema CIELab.

A atividade de água dos produtos otimizados encontra-se abaixo de 0,6, indicando estabilidade quanto ao crescimento microbiológico. O valor de dureza apresentou um grande coeficiente de variação, provavelmente devido às várias falhas na estrutura dos extrusados (Figura 13), que provocaram diferenças na força máxima necessária para a quebra de cada pedaço utilizado no teste. O valor de densidade aparente foi calculado aproximando-se o volume do extrusado ao de uma casca de cilindro, devido à sua estrutura oca, porém as falhas no corpo do extrusado não foram contabilizadas, possivelmente causando a grande variabilidade dos dados. ISA e IAA mostraram valores baixos, atribuídos, como comentado

anteriormente, à pequena proporção de amido nos *blends* e à alta quantidade de fibras insolúveis.

Um fato interessante é que os valores médios de ambas, densidade aparente e dureza, foram compatíveis com valores encontrados em outros estudos com a adição de 10 a 30% de RUC e, portanto, muito menores do que os encontrados na primeira parte desta pesquisa (STOJCESKA et al., 2008, 2009; AINSWORTH et al., 2007). Considerando que entre os objetivos da otimização estavam minimizar o valor da dureza e o da densidade, as alterações provocadas pela manutenção nas peças da extrusora mostrou-se positiva para o projeto.

As propriedades de pasta representam a interação do amido e outros componentes da mistura, como proteínas e carboidratos não amiláceos, com a água e sua capacidade de formação de gel. O amido *in natura* não possui capacidade de absorver água, gerando soluções de baixa viscosidade à temperatura ambiente. Porém, sob aquecimento e aplicação de energia mecânica, ocorre absorção de água, causando o intumescimento do grânulo, o qual perde sua estrutura cristalina, e lixiviação da amilose até um ponto de máxima viscosidade do gel, processo conhecido como gelatinização do amido. Passado este ponto, com a continuidade da aplicação de energia térmica e mecânica, ocorre o rompimento dos grânulos amorfos e diminuição da viscosidade. Um aumento da viscosidade pode novamente ser observado após o resfriamento da pasta, devido à retrogradação do amido, havendo reorganização das cadeias de amilose e, em menor extensão, de amilopectina (GUTKOSKI e EL DASH, 1979).

O efeito da adição de fibras nas propriedades de pasta de misturas e extrusados foi estudado por diversos autores (COLLAR et al., 2006; BRENNAN et al., 2008 a e b) e discute-se que a sua adição tem dois efeitos principais: a) diminuição da quantidade de amido disponível para gelatinização, efeito diluidor; b) efeito retardador sobre a gelatinização do amido (COLLAR et al., 2006). Diferenças no perfil de viscosidade foram encontradas para fibras de diferentes fontes e solubilidades.

As propriedades de pasta dos extrusados, em comparação com a de seus *blends*, estão apresentadas na Tabela 15. Os *blends* não passaram por nenhum tipo de tratamento prévio à análise no *Rapid Visco Analyser* (RVA), pois qualquer processamento levaria a alterações nas propriedades de pasta ou segregação das matérias-primas da amostra. Seu gráfico (Figura 15a) apresenta muitos ruídos atribuídos à interferência das fibras insolúveis do

RUC, fibras grandes e duras, na formação da pasta e na resposta medida pelo sensor do aparelho, que possui alta sensibilidade.

Tabela 15 - Propriedades de pasta dos *blends* e dos extrusados

	TP (°C)	Vinicial (cP)	Vmáx (cP)	Vmín (cP)	QV (cP)	Vf (cP)	TR (cP)
Blend	63,96±10,07	-	236,50±7,37	216,17±6,18	20,33±3,67	270,67±9,50	54,50±6,35
Extrusado	-	186,50±27,75	125,50±4,51	87,17±2,79	38,33±2,73	153,83±5,78	66,67±3,33

Valores expressos em média ± desvio padrão. TP = temperatura de pasta; Vinicial = viscosidade de pasta inicial a frio; Vmáx = viscosidade de pasta máxima; Vmín = viscosidade de pasta mínima a quente; QV = quebra de viscosidade (Vmáx – Vmín); Vf = viscosidade final; TR = tendência à retrogradação (Vf – Vmín).

No presente estudo, a mistura apresentava baixa quantidade de amido, principalmente proveniente dos *grits* de milho, e alta quantidade de fibras insolúveis e proteínas, o que explica as baixas viscosidades encontradas para ambos os *blends* e os extrusados e a não formação de gel. Os resultados encontram-se abaixo dos encontrados por Carvalho et al. (2010) para extrusados de *grits* de milho com granulometria similar à utilizada. Diversos autores encontraram resultados exibindo a mesma tendência, indicando que a adição de fibras insolúveis causa a redução da viscosidade total, tanto de misturas de ingredientes, quanto de produtos extrusados (BRENNAN et al., 2008ab; ROBIN et al., 2011; ROSSEL et al., 2009; KTENIOUDAKI et al., 2013).

Fibras insolúveis competem com o amido pela água, diminuindo a água disponível para a gelatinização. Ambos têm dinâmicas diferentes de hidratação; enquanto as fibras se ligam muito rapidamente às moléculas de água, o amido demora mais a se hidratar, porém, as ligações formadas são muito mais fortes (BRENNAN et al., 2008b). O efeito das fibras sobre a gelatinização do amido se traduz em maiores tempos e temperaturas para que ocorra o pico de viscosidade, ou seja, a gelatinização completa do amido (COLLAR et al., 2006).

Durante o processo de extrusão, energias mecânica e térmica são aplicadas, em presença de água, favorecendo a gelatinização do amido e, dependendo da drasticidade do processo, o rompimento das cadeias de amido em extensões diversas, o que leva a viscosidades de pasta de extrusados menores do que as encontradas para misturas cruas (BRENNAN et al., 2008ab; GUTKOSKI e EL DASH, 1999; GAJULA et al., 2012; SHARMA, 2013).

Amido totalmente gelatinizado apresenta uma alta viscosidade a frio, seguida de queda de viscosidade entre 50 e 95°C, sem nenhum pico de gelatinização, além de um

aumento progressivo de viscosidade com o resfriamento, característico da retrogradação (GUTKOSKI e EL-DASH, 1999). Observa-se, na Figura 14b, que nem todo o amido foi gelatinizado durante o processo de extrusão, aparecendo um pequeno pico de gelatinização com início aos 7 minutos/94°C, destacado pela circunferência azul, evidenciando o efeito das fibras sobre a gelatinização do amido.

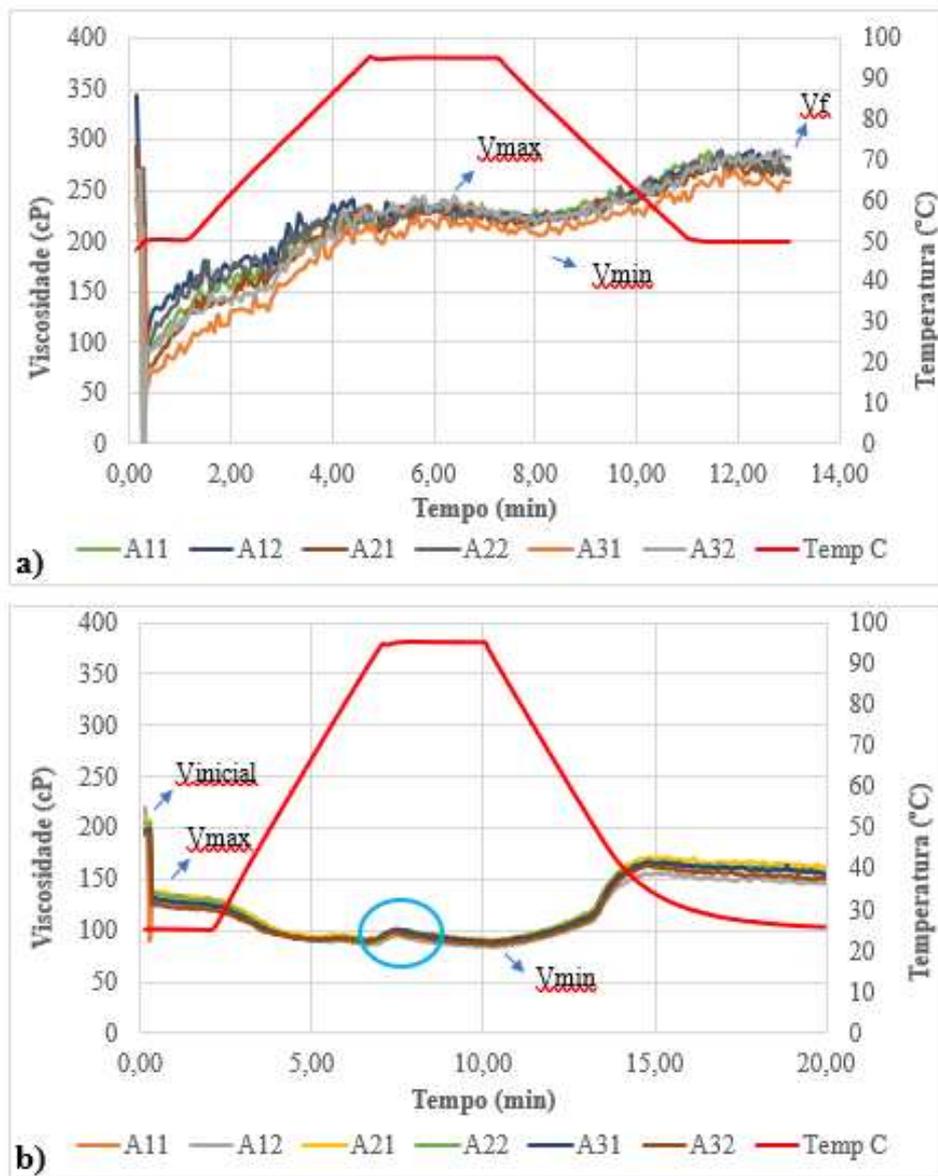


Figura 15 - Propriedades de pasta dos produtos otimizados: a) blends; b) extrusados

Vinicial = viscosidade de pasta inicial a frio; Vmáx = viscosidade de pasta máxima; Vmín = viscosidade de pasta mínima a quente; Vf = viscosidade final; A11, A12, A21, A22, A31, A32 = amostras dos produtos extrusados, onde o primeiro número indica a triplicata de processo e o segundo a duplicata de análise; Temp C = rampa de temperatura da análise.

5.2.1.1.3 Parâmetros nutricionais

Além do alto conteúdo de fibras, os extrusados apresentam um alto conteúdo proteico. Uma das formas de avaliar sua qualidade nutricional é através do teste de

digestibilidade proteica. Stojceska et al. (2008) e Ainsworth et al. (2007) propõem uma metodologia simples e econômica para uma estimativa da digestibilidade proteica, baseada na metodologia de Hsu et al. (1977) e Dahlin e Lorenz (1993), porém, utilizando apenas uma enzima, a tripsina, e medindo a queda de pH por 10 min após sua adição.

Processos que envolvem aquecimento, como a extrusão, geralmente aumentam a digestibilidade proteica, por inativar inibidores de protease e outros fatores anti-nutricionais, além de provocar a desnaturação proteica, o que facilita a ação das enzimas. Por outro lado, podem causar sua diminuição por favorecerem a formação de complexos de proteínas com outros macronutrientes, com o ácido fítico, ou com açúcares durante a Reação de Maillard. (DAHLIN E LORENZ, 1993; BJORCK E ASP, 1983; STOJCESKA et al., 2008; AINSWORTH et al., 2007). As condições de processo, umidade, temperatura e cisalhamento, influem na digestibilidade proteica, conforme o trabalho de Dahlin e Lorenz (1993), que encontraram como condições de extrusão para maximizar a digestibilidade proteica de diferentes cereais 15% de umidade, 100/150°C de temperatura e velocidade da rosca de 100 rpm. Ao contrário do esperado, no presente trabalho, a DIVP dos extrusados apresentou-se menor do que a dos *blends*, a $p < 0,05$, como pode ser observado na Tabela 16.

Stojceska et al. (2008) medindo o efeito de RUC (0-30%) e amido (0-100%) em *snacks* extrusados prontos para o consumo, com base de farinha de trigo, encontraram valores de digestibilidade *in vitro* de proteínas (DIVP) variando de 69,1 a 76,6g/100g. Os menores valores de DIVP foram obtidos para as formulações sem RUC, ao que os autores associaram aos menores teores de proteína total dessas amostras. Porém, não foi obtida uma relação significativa entre os níveis de RUC e o DIVP nas diferentes formulações.

Ainsworth et al. (2007) verificaram um aumento na DIVP (76,2 a 91,2 g/100g) com o aumento da velocidade da rosca em amostras sem RUC. A adição de RUC em diferentes níveis, porém, não levou a diferenças significativas entre DIVP das amostras, o que os autores associaram ao aumento de fatores anti-nutricionais na mesma proporção do aumento no teor proteico nas amostras.

Tabela 16 - Digestibilidade *in vitro* de proteínas (g/100g)

<i>Blends</i>	Extrusados
87,81 ± 2,35 ^a	80,69 ± 2,87 ^b

* letras diferentes indicam diferença significativa a $p < 0,05$

A menor digestibilidade proteica dos extrusados em relação aos *blends* poderia ser atribuída ao fato de as condições de extrusão, apesar de terem levado à desnaturação proteica, terem também favorecido a interação de proteínas com ácido fítico, lipídeos, açúcares (reação de Maillard), amido e outros nutrientes formando complexos não digeríveis por tripsina. Nos *blends*, a interação entre os fitatos e outros componentes presentes no RUC e as proteínas das leveduras podem ainda não ter ocorrido (KAUR e SATYANARAYANA, 2009; HÍDVÉGI e LÁSZTITY, 2002; GREINER e KONIETZNY, 2006; DAHLIN e LORENZ, 1993; AINSWORTH et al., 2007).

5.2.2 Delineamento B

Por estarmos usando matérias-primas não usuais e das quais se tem pouca informação, decidiu-se por um delineamento experimental de misturas para investigação (*screening*), onde o objetivo é descobrir quais as maiores influências no processo. Pó de arroz (PDA), derivado do processo de fabricação de saquê, pareceu uma matéria-prima promissora, uma vez que o arroz é usado com sucesso em extrusão e fabricação de *snacks*. Encontrou-se uma alta quantidade de carboidratos e uma quantidade notória de proteínas e fibras solúveis. Sua carga microbiológica mostrou-se bem baixa, ao contrário do pó de malte (PDM), o que nos fez decidir utilizá-lo como o ingrediente amiláceo e de baixa umidade a ser fixado em quantidade mínima para que o *blend* referente ao centroide do delineamento fosse extrudável (30% de umidade).

Para as faixas de variação dos componentes do delineamento, considerou-se a seguinte lógica: (i) o máximo possível de adição de RUC úmido, já que é o subproduto gerado em maior quantidade na indústria cervejeira: estabeleceu-se um mínimo de 30%; (ii) uma quantidade baixa de LEV, já que é o subproduto mais nobre e também o mais úmido entre os utilizados: definiu-se um mínimo de 10%; e, (iii) para o PDM, ingrediente de menor umidade e maior conteúdo de amido dentre os 3 (três), porém com alta carga microbiana, definiu-se uma faixa intermediária, com um mínimo de 30%.

Definidas as adições mínimas, utilizou-se a Equação 11 para a definição das L-pseudocomponentes (CORNELL, 2002):

$$x'_i = \frac{x_i - L_i}{1 - L}$$

Onde x'_i é a L-pseudocomponente, x_i é a componente original do delineamento e L é a somatória dos limites inferiores das variáveis, $L = 0,3+0,1+0,3 = 0,7$. Assim, têm-se as Equações 12:

$$x'_1 = \frac{x_1 - 0,3}{0,3} \qquad x'_2 = \frac{x_2 - 0,1}{0,3} \qquad x'_3 = \frac{x_3 - 0,3}{0,3}$$

Equações 12

A matriz do delineamento configurado para as pseudocomponentes foi gerada no software MODDE PRO 12 (SARTORIUS, 2017). O modelo foi convertido para configuração em componentes originais para melhor entendimento do mesmo. Foi utilizada a Equação 13 para a conversão das L-pseudocomponentes:

$$x_1 = L_i + (1 - L)x'_1$$

Equação 13

Assim, definiu-se o delineamento experimental expresso na Tabela 2. Definiu-se, através de testes preliminares, que o pó de arroz (PDA) deveria ser fixo em 55%. Portanto, os *blends* foram preparados com 55% de PDA e os outros 45% foram compostos pela mistura de RUC (x_1), LEV (x_2) e PDM (x_3), seguindo o delineamento de misturas. Isso significa que no total do *blend* a adição de RUC úmido variou de 13,5 a 27%, LEV de 4,5 a 18% e PDM também de 13,5 a 27%.

Devido à sua alta umidade (30,77% e 33,03%) e alta tendência ao empacotamento e formação de grumos, os Ensaios 5 e 2 mostraram-se um desafio para o sistema de alimentação da extrusora. Com grandes dificuldades, foi possível extrusar parte do Ensaio 5, suficiente para as análises, porém, não foi possível extrusar o Ensaio 2. Esse fato não impossibilita a análise estatística, pois a regressão PLS é capaz de lidar com células vazias (*missing values*) na planilha de respostas (SARTORIUS, 2017).

A regressão PLS pode ser conduzida de duas maneiras: (i) considerando diferentes modelos para as diferentes respostas do planejamento experimental (PLS1) ou (ii) considerando um mesmo modelo para todas as respostas (PLS2). Cada uma lida com células vazias de um jeito diferente. A primeira exclui dos cálculos a linha que contém os valores faltantes, não levando em consideração o ensaio a que se refere para calcular o número de experimentos (n), o qual é utilizado no cálculo de desvio padrão do resíduo (RSD), ANOVA, intervalo de confiança, graus de liberdade, entre outros. Já PLS2 não exclui a linha com

células vazias, a não ser que todos os valores da linha estejam faltando (SARTORIUS, 2017). Nesse estudo foi utilizado o modelo PLS1, assim, o número de experimentos utilizado nos cálculos dos parâmetros estatísticos foi 8 em vez de 9.

A Figura 16 traz a fotografia dos extrusados correspondentes a cada ponto do delineamento de misturas, dispostos sobre o simplex, sendo possível notar as características de cada composição e as diferenças em relação às demais.

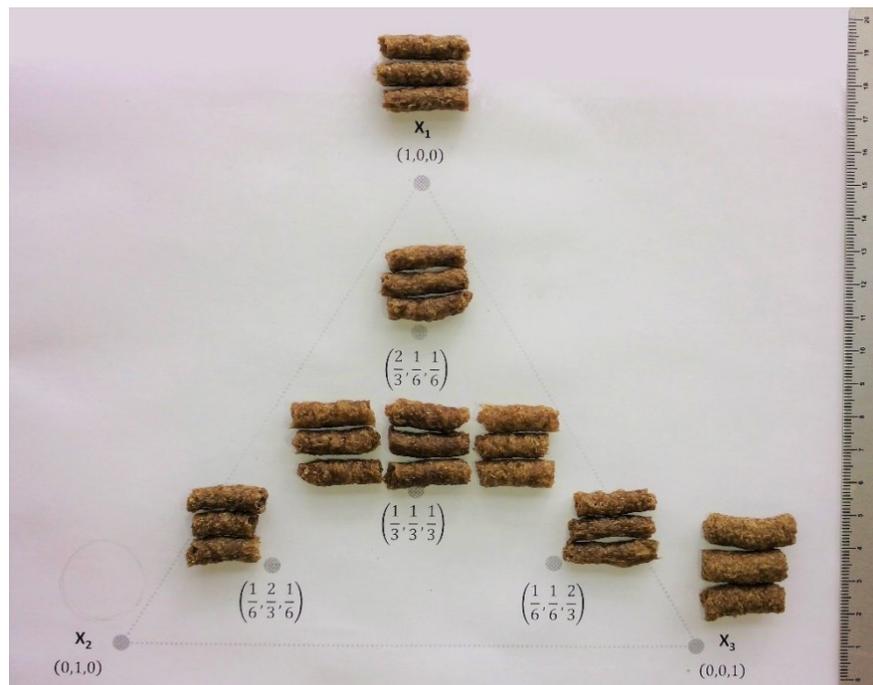


Figura 16 - Extrusados correspondentes a cada ponto do delineamento de misturas B

A Tabela 17 apresenta os valores de umidade dos *blends*, umidade e atividade de água dos extrusados úmidos e secos, e teor proteico dos extrusados, enquanto a Tabela 19 apresenta os valores dos parâmetros tecnológicos densidade aparente (Densidade), índice de expansão (IE), índice de solubilidade e de absorção de água (ISA e IAA) e dureza. A Tabela 18 traz os coeficientes da regressão PLS e outros parâmetros estatísticos referentes aos modelos das respostas que se mostraram significativos a $p < 0,05$.

Tabela 17 - Valores de umidade dos *blends*, umidade e atividade de água dos extrusados úmidos e secos, e teor proteico dos extrusados

Ensaio	RUC	LEV	PDM	Ublend (%)	Uúmido (%)	Useco (%)	Awúmido	Awseco	Proteínas (%)
1	0,60	0,10	0,30	31,29	25,48	8,43	0,9290	0,5894	17,08
2	0,30	0,40	0,30	33,03	-	-	-	-	-
3	0,30	0,10	0,60	22,45	17,99	6,39	0,8637	0,3860	16,33
4	0,50	0,15	0,35	29,93	24,26	9,60	0,9261	0,6595	16,47
5	0,35	0,30	0,35	30,77	24,46	10,17	0,9146	0,6667	17,58
6	0,35	0,15	0,50	25,55	19,71	8,82	0,8873	0,5871	16,58
7	0,40	0,20	0,40	29,84	23,17	10,37	0,9172	0,6287	16,51
8	0,40	0,20	0,40	28,59	22,47	9,87	0,9140	0,5622	16,77
9	0,40	0,20	0,40	28,10	22,54	8,82	0,9181	0,5695	16,72

RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; PDM = pó de malte; Ublend = umidade dos *blends*; Uúmido = umidade dos extrusados antes da secagem em estufa; Useco = umidade dos extrusados após a secagem; Awúmido = atividade de água dos extrusados antes da secagem; Awseco = atividade de água dos extrusados após a secagem; Proteínas = teor proteico, em base seca.

A umidade dos *blends* variou de 22,45% (Ensaio 3) a 33,03% (Ensaio 2), a dos extrusados úmidos de 17,99% (Ensaio 3) a 25,48% (Ensaio 1), e dos extrusados secos de 6,39% (Ensaio 3) a 10,37% (Ensaio 7). A redução da umidade pela extrusora foi relativamente homogênea entre os ensaios. Houve uma queda de $5,80 \pm 0,65\%$ no valor, o que representa uma média de 20,54% de redução da umidade em relação aos *blends*. Brennan et al. (2008a) encontraram diferenças na perda de umidade pela extrusão testando a adição diferentes fibras em substituição à farinha de trigo *high ratio* (farinhas de granulometria muito fina e geralmente tratadas com gás cloro). A adição de fibra de trigo, goma guar e fibra de nabo provocaram aumento da perda de água, em relação ao controle, com o aumento de sua substituição, uma variação de ~35% (para o controle) a ~45% (para 15% de adição de fibra de nabo). Já a adição de inulina provocou uma diminuição na perda de umidade com o aumento da sua incorporação. Essas diferenças podem ser atribuídas às diferenças entre a ligação do amido na farinha *high ratio* e das diferentes fibras com a água. Enquanto as fibras de trigo, goma guar e de nabo formaram ligações fracas com a água, o amido e a inulina formaram ligações fortes, não perdendo água com facilidade.

Já a redução da umidade na estufa apresentou uma variação muito grande entre os ensaios, indicando que a composição dos extrusados influencia na perda de água pelos mesmos, porém, essa variação também pode ser atribuída a diferenças na disposição e posição dos extrusados dentro da estufa, uma vez que, mesmo entre as replicatas do ponto equivalente ao centroide do modelo, houve uma grande variação. Foi encontrada uma queda de 2,48%

(Ensaio 4) a 8,32% (Ensaio 6) no valor da umidade, o que corresponde a 10,23% e 42,43% de redução de umidade na estufa.

A regressão PLS para a umidade dos *blends* (*Ublend*) resultou em 1 componente PLS explicando 97,1% da variação da resposta (R^2) e 84,9% da predição da resposta (Q^2). A Figura 17 traz um gráfico de colunas ilustrando os coeficientes de regressão do modelo, com seus desvios padrão, e o gráfico de contorno da superfície de resposta de *Ublend*. Nota-se que LEV e PDM apresentam as maiores influências neste parâmetro, porém com efeitos inversos, uma vez que são os componentes de maior e menor umidade, respectivamente. Enquanto PDM tem influência negativa, levando ao mínimo de *Ublend* com o máximo de sua adição, RUC e LEV têm influência positiva, e o máximo de *Ublend* é encontrado com o máximo de adição de LEV.

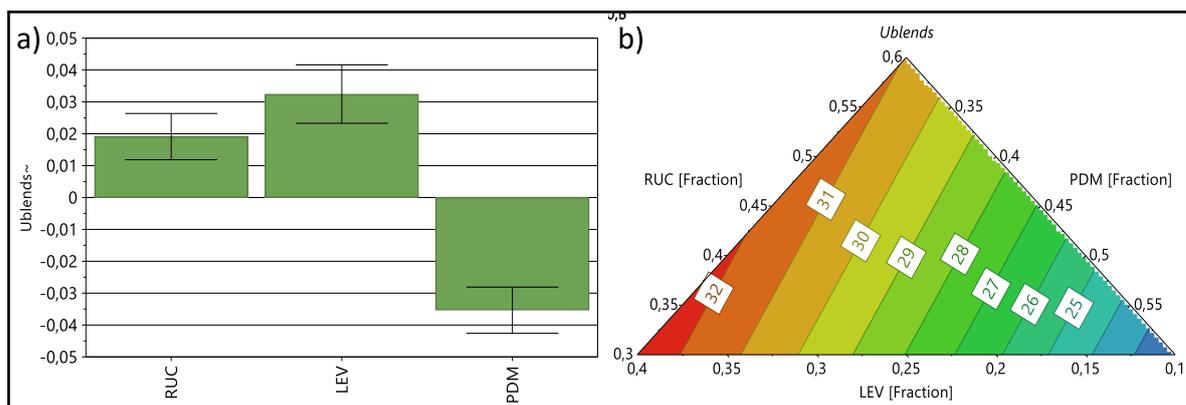


Figura 17 - Coeficientes de regressão PLS para umidade dos *blends* (*Ublend*) com seus respectivos desvios padrões (a) e gráfico de contorno da superfície de resposta (b).

RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; PDM = pó de malte; no gráfico de contorno da superfície de resposta (b), cores mais frias (azul) representam valores menores, enquanto cores mais quentes (vermelho) representam valores maiores.

A regressão PLS para a umidade dos extrusados úmidos (Uúmido) resultou em 3 (três) componentes PLS explicando 99% da variação da resposta (R^2) e 96,1% da predição da resposta (Q^2). Nota-se, pela Figura 18, que LEV e RUC tiveram a maior influência na Uúmido, aumentando o seu valor conforme o aumento de suas porcentagens. O termo quadrático de PDM, apesar de não significativo a $p < 0,05$, foi inserido no modelo para melhorar a normalidade dos resíduos. Mesmo que o modelo parta de uma base linear, este termo contribuiu para a interpretação do modelo.

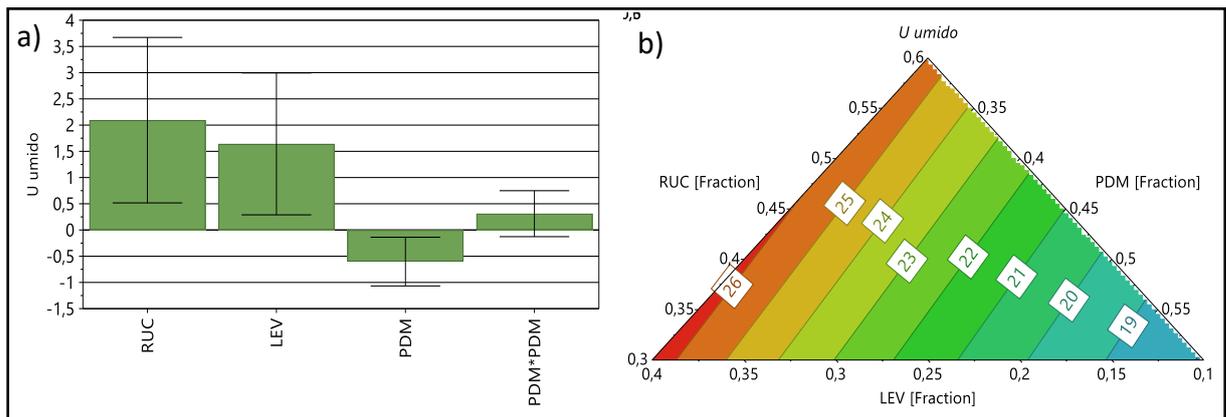


Figura 18 - Coeficientes de regressão PLS para umidade dos extrusados úmidos (Uúmido) com seus respectivos desvios padrões (a) e gráfico de contorno da superfície de resposta (b).

RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; PDM = pó de malte; no gráfico de contorno da superfície de resposta, cores mais frias (azul) representam valores menores, enquanto cores mais quentes (vermelho) representam valores maiores.

A regressão PLS para a umidade dos extrusados secos (U_{seco}) resultou em 2 componentes PLS explicando 72,8% da variação da resposta (R^2) e apenas 23,4% da predição da resposta (Q^2). Ainda assim, a regressão foi significativa a $p < 0,05$. Nota-se, analisando a Figura 19, que apenas LEV e PDM tiveram influência neste parâmetro, com efeitos opostos.

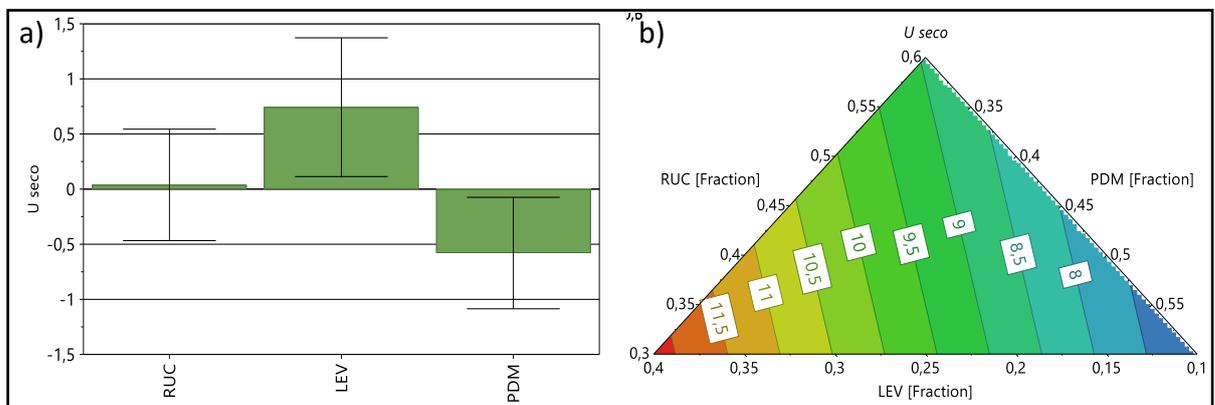


Figura 19 - Coeficientes de regressão PLS para umidade dos extrusados secos (U_{seco}) com seus respectivos desvios padrões (a) e gráfico de contorno da superfície de resposta (b).

RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; PDM = pó de malte; no gráfico de contorno da superfície de resposta, cores mais frias (azul) representam valores menores, enquanto cores mais quentes (vermelho) representam valores maiores.

A atividade de água (a_w) dos extrusados úmidos ($A_{w\text{úmido}}$) variou de 0,8637 (Ensaio 3) a 0,9290 (Ensaio 1), enquanto a a_w dos extrusados secos ($A_{w\text{seco}}$) variou de 0,3860 (Ensaio 3) a 0,6667 (Ensaio 5). Assim, com a secagem a 80°C/30min, atingiu-se um valor de a_w menor que 0,60 para a maioria dos extrusados, valor que garante a estabilidade

microbiológica (FELLOWS, 2000). Os Ensaios 4 (0,6595) e 5 (0,6667) apresentaram a_w que permite o crescimento de bolores xerofílicos e leveduras osmofílicas, sendo recomendada a adoção de outro binômio tempo/temperatura para a sua secagem. Apenas A_w apresentou modelo significativo a $p < 0,05$.

A regressão PLS para a a_w dos extrusados úmidos resultou em 2 componentes PLS explicando 94,5% da variação da resposta (R^2) e 86,1% da predição da resposta (Q^2). A Figura 20 indica que os três componentes tiveram influência neste parâmetro e, visando sua diminuição, seria necessário aumentar a porcentagem de PDM e diminuir a de RUC e LEV.

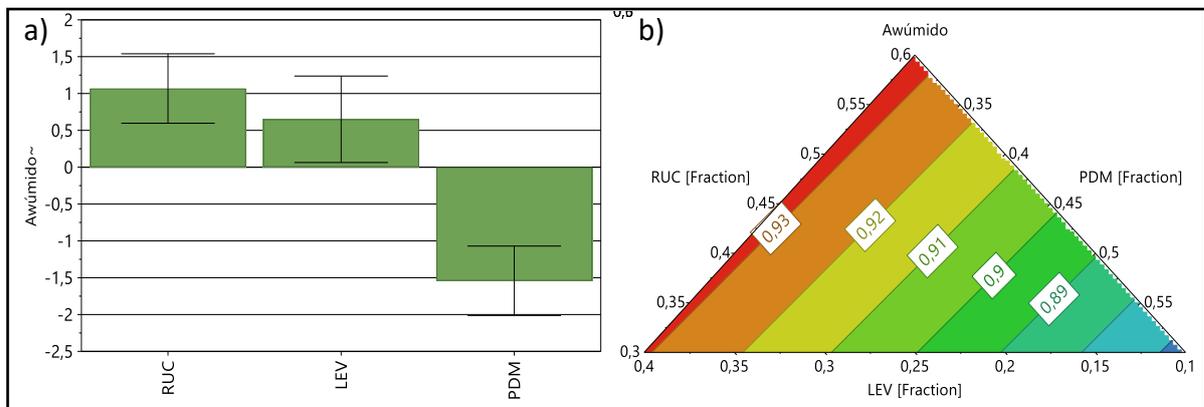


Figura 20 - Coeficientes de regressão PLS para atividade de água dos extrusados úmidos com seus respectivos desvios padrões (a) e gráfico de contorno da superfície de resposta (b).

RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; PDM = pó de malte; no gráfico de contorno da superfície de resposta, cores mais frias (azul) representam valores menores, enquanto cores mais quentes (vermelho) representam valores maiores.

O teor proteico dos extrusados variou de 16,33 (Ensaio 3) a 17,58 (Ensaio 5) e foi condizente com o cálculo teórico baseado no teor proteico das matérias-primas (não mostrado), porém não apresentou modelo estatístico significativo a 95%. Os parâmetros com modelos estatísticos significativos são apresentados, juntamente aos parâmetros estatísticos referentes a cada modelo, na Tabela 18.

Tabela 18 - Coeficientes da regressão PLS e outros parâmetros estatísticos

	Ublend	Uúmido	Useco	Awúmido
Constante	-1,62239	22,238	9,05875	41,6011
RUC	0,01911	2,09413	0,03833*	1,06768
LEV	0,03246	1,64132	0,74325	0,6501
PDM	-0,03534	-0,60267	-0,58006	-1,5416
PDM*PDM		0,31091*		
Transformação da Resposta	-10Log(100-2*Y)		Exp(3*Y+1)	
GL	6	4	5	5
Q²	0,849	0,961	0,234	0,861
R²	0,971	0,99	0,728	0,945
R²_{ajs}	0,961	0,983	0,62	0,923
RSD	0,0125	0,3288	0,7916	0,7377
Número de condicionamento	1,732	4,095	1,43	1,43
Número de componentes PLS	1	3	2	2
p - valor da falta de ajuste	0,92962	0,68727	0,53470	0,08179

*Coeficientes não significativos a um nível de confiança de 95%; *Ublend* = umidade dos *blends*; *Uúmido* = umidade dos extrusados antes da secagem em estufa; *Useco* = umidade dos extrusados secos; *Awúmido* = atividade de água dos extrusados antes da secagem em estufa; *RUC* = resíduo úmido de cervejaria; *LEV* = excesso de levedura; *PDM* = pó de malte; *GL* = graus de liberdade; *R²* = coeficiente de explicação do modelo; *Q²* = coeficiente de predição do modelo; *R²_{ajs}* = *R²* ajustado pelos graus de liberdade do modelo; *RSD* = desvio padrão do resíduo.

A Tabela 19 apresenta os parâmetros tecnológicos avaliados, índice de expansão (IE), densidade aparente (Densidade), dureza experimental (Dureza) e índices de absorção de água (IAA) e de solubilidade em água (ISA).

Tabela 19 - Parâmetros tecnológicos dos extrusados

Ensaio	RUC	LEV	PDM	IE	Densidade (g/cm ³)	Dureza (N)	IAA (g/g)	ISA (%)
1	0,60	0,10	0,30	1,45	0,5607	63,64	7,26	21,46
2	0,30	0,40	0,30	-	-	-	-	-
3	0,30	0,10	0,60	1,83	0,4502	37,96	6,28	23,14
4	0,50	0,15	0,35	1,35	0,6295	65,01	7,73	22,56
5	0,35	0,30	0,35	1,43	0,6452	80,59	7,07	24,32
6	0,35	0,15	0,50	1,33	0,7145	89,21	6,43	21,11
7	0,40	0,20	0,40	1,60	0,5076	57,81	6,42	19,91
8	0,40	0,20	0,40	1,60	0,5795	72,48	6,45	23,20
9	0,40	0,20	0,40	1,66	0,4860	48,73	7,19	20,46

RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; PDM = pó de malte; IE = índice de expansão; Dureza = parâmetro de textura instrumental; IAA = índice de absorção de água; ISA = índice de solubilidade em água.

Nenhum parâmetro tecnológico gerou modelo significativo a $p < 0,05$, apresentando dados dispersos e, em sua maioria, variações entre as replicatas do ponto centroide do delineamento. A dureza dos extrusados secos variou de 37,96 N (Ensaio 7) a 89,21 N (Ensaio 6), com um coeficiente de variação entre as replicatas do ponto central de 20,08%. O índice de expansão variou de 1,33 (Ensaio 6) a 1,83 (Ensaio 3), enquanto a densidade aparente de 0,45 (Ensaio 3) a 0,64 g/cm³ (Ensaio 5).

Kirjoranta et al. (2016) estudaram as propriedades tecnológicas de extrusados de farinha integral de cevada com adição de 10% de RUC liofilizado e/ou 20% de isolado proteico de soro (IPS) e/ou 34,5% de amido de cevada e/ou 34,5% de amido de milho ceroso. Os extrusados contendo apenas RUC obtiveram os menores valores de expansão (1%), fato atribuído à interferência das fibras insolúveis do RUC na formação e crescimento das bolhas de ar, enquanto a adição de amido e IPS aumentaram a expansão dos extrusados contendo RUC, chegando a 122%. Um aumento na expansão e diminuição da densidade foi observado com o aumento da velocidade da rosca e diminuindo a umidade das misturas, resultado também obtido por diversos outros autores (STOJCESKA et al., 2009; GUTKOSKI e EL DASH; 1999; DING et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2017; AINSWORTH et al., 2007).

Os valores de dureza encontrados por Kirjoranta et al. (2016) variaram de 54 N/mm (RUC-IPS-amido ceroso) a 200 N/mm (RUC), valores muito acima do encontrado para *snacks* comerciais (2,7 N/mm) e dos encontrados por Altan et al. (2009) para extrusados de farinha de cevada (22,38 a 24,18 N), indicando que a adição de RUC provoca um grande aumento da dureza, enquanto adição de IPS e, principalmente, de amido levam a diminuição deste parâmetro. Ainsworth et al. (2007) também encontraram resultados dispersos para a

dureza em relação à adição de RUC em extrusados base farinha de milho, com até 30% de RUC. Os valores, no entanto, foram muito menores dos que os encontrados por Kirjoranta et al. (2016), variando de 11,18 N a 18,35 N para 10% de adição de RUC, indicando que o tipo de farinha ou amido utilizado tem grande influência sobre a dureza.

Nascimento et al. (2017) apontam que a maior densidade dos extrusados de RUC e arroz afetou sua textura, aumentando a dureza e diminuindo a crocância quando comparados com extrusados com menores quantidades de RUC. No presente estudo não foi encontrada relação direta entre densidade aparente, dureza e IE, apesar de o ensaio com menor dureza (37,96 N) ser aquele com maior IE (1,83) e menor Densidade (0,4502 g/cm³), Ensaio 3, enquanto o ensaio com maior dureza (89 N) apresentou a maior densidade (0,7145 g/cm³) e menor IE (1,33), Ensaio 6.

O IAA apresentou uma faixa de 6,28 (Ensaio 3) a 7,73 (Ensaio 4) enquanto o ISA de 19,91 (Ensaio 7) a 24,32 (Ensaio 5). Em comparação, os valores de IAA e ISA do PDA, componente majoritário dos extrusados do Delineamento B, foram 3,92±0,03 g/g e 13,08±0,09%, respectivamente, enquanto do PDM foram 3,12±0,04 e 23,49±0,24. Nota-se que a extrusão provocou um aumento no ISA e no IAA, em relação ao estimado a partir da proporção de matérias-primas utilizadas na composição dos *blends*. O ISA está normalmente relacionado à dextrinização do amido e solubilização de outros componentes, como fibras, durante a extrusão, sendo um indicativo da drasticidade do processo. Já o IAA, pode ser associado à gelatinização do amido e, em amostras gelatinizadas, à presença de cadeias longas e intactas deste, diminuindo com a redução no tamanho das cadeias.

Os resultados de ISA e IAA foram parecidos com os obtidos por Stojceska et al. (2008) para extrusados contendo 44-0% de farinha de trigo, 44-88% de amido de milho e 12% de outros ingredientes, incluindo levedura, adicionados de 0-30% de RUC (p/p), e passados pela extrusora em velocidades de 250 e 350 rpm. Os autores observaram que RUC teve um efeito negativo sobre o ISA em todas as condições testadas.

A grande variabilidade nas respostas dos parâmetros avaliados pode ser atribuída à grande heterogeneidade do PDM, composto de diversas frações de diferentes densidades e tamanhos de partícula: casca de malte, grãos inteiros de baixa densidade, partículas finas resultantes da abrasão dos grãos, etc. Sem nenhum processo de moagem para a sua homogeneização é muito difícil a obtenção de porções com a mesma composição para a formulação dos *blends*, bem como para as análises.

O gráfico VIP (*Variable Importance in Projection*), Figura 21, que mostra em forma de colunas decrescentes os valores de importância dos termos no modelo, de todas as respostas, tanto em relação a Y, quanto em relação a X (projeção), confirma esta teoria, mostrando o PDM como o termo de maior influência nas respostas, considerando um modelo linear para todas.

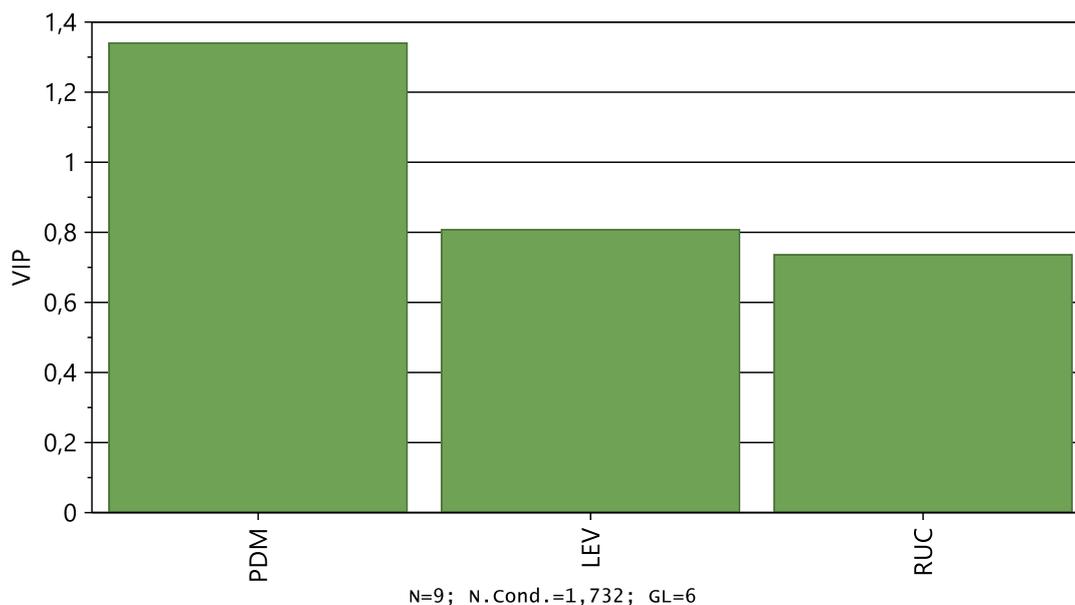


Figura 21 - Gráfico de Importância das Variáveis (VIP)

VIP = “*variable importance in projection*” = projeção das variáveis em nível de importância; PDM = pó de malte; LEV = excesso de levedura; RUC = resíduo úmido de cervejaria; PLS, comp. = número de componentes PLS do modelo; N = número de ensaios; N. Cond. = número de condicionamento da matriz PLS; GL = graus de liberdade; PLS = *partial least squares*

5.2.2.1 Otimização

A partir dos parâmetros que apresentaram modelos significativos, foi realizada a otimização do produto, também se utilizando o *software* MODDE PRO 12. Os critérios definidos para a otimização encontram-se na Tabela 20 e foram escolhidos com o objetivo de se obter um produto intermediário entre o Ensaio 3 e os Ensaios 7/8/9 (centroide). Os produtos destes ensaios apresentaram os maiores índices de expansão e menores densidades, *blends* fáceis de extrusar, umidade a seco reduzida a níveis satisfatórios, assim como o a_w – indicando uma boa conservação dos produtos, e um nível de proteína variando de 16,33 a 16,77%. Enquanto o Ensaio 3 apresentou propriedades tecnológicas um pouco superiores, os centroides possuem maiores quantidades de RUC e também teor proteico um pouco superior.

Tabela 20 - Critérios para a otimização

Resposta	Critério	Mín.	Target	Máx.	Mín. Predito	Máx. Predito	Gráfico
Ublend	Target	23	26	27	21,97	32,72	
Uúmido	Target	18	20	22	17,90	26,56	
Useco	Target	7	8,5	10	7,02	12,25	
Awúmido	Target	0,865	0,882	0,889	0,8664	0,9338	

Ublend = umidade dos blends; Uúmido = umidade dos extrusados antes da secagem em estufa; Useco = umidade dos extrusados após a secagem; Awúmido = atividade de água dos extrusados antes da secagem.

O *software* procura, através de uma função de desejabilidade geral ($f(ds)$), encontrar um *setpoint*, ou seja, certa proporção de ingredientes na mistura, que gere um produto cujos parâmetros calculados através do modelo (previstos) estejam o mais próximos possível dos critérios estabelecidos na otimização (*target*). A diferença entre o valor calculado e o estabelecido como critério é expresso como log da distância normalizada do *target* ($\log(D)$) e o *setpoint* escolhido será, por padrão, aquele que apresenta o menor $\log(D)$. É também possível escolher o ponto com menor probabilidade de falha, considerando a capacidade de previsão do modelo de cada variável. O *setpoint* escolhido para esta otimização encontra-se na Tabela 21, enquanto a Tabela 22 mostra as respostas preditas pelo modelo e seus respectivos $\log(D)$ e probabilidade de fracasso.

Tabela 21 - *Setpoint* escolhido a partir da otimização

Fator	Valor	Gráfico	Contribuição do fator
RUC	0,300044		20,7194
LEV	0,167261		40,8652
PDM	0,532695		38,4153

RUC = resíduo úmido de cervejaria; LEV = excesso de levedura; PDM = pó de malte.

Tabela 22 - Valores de resposta preditos para o *setpoint* escolhido

Resposta	Critério	Valor	Gráfico	$\log(D)$	Probabilidade de fracasso
Ublend	Target	24,852		-0,80308	0,44%
Uúmido	Target	19,3104		-0,92481	0,16%
Useco	Target	8,19513		-1,38396	3,40%
Awúmido	Target	0,88203		-4,75291	6,80%

Ublend = umidade dos blends; Uúmido = umidade dos extrusados antes da secagem em estufa; Useco = umidade dos extrusados após a secagem; Awúmido = atividade de água dos extrusados antes da secagem.

Utilizando-se as proporções dos componentes definidas pela otimização, seguiu-se com a extrusão, em triplicata, dos produtos otimizados, apresentados na Figura 22. A extrusão foi conduzida nas mesmas condições de processo definidas para o delineamento experimental, Tabela 23, juntamente à vazão de alimentação e a energia mecânica específica (EME) derivadas do processo. A Tabela 24 apresenta os valores preditos pelo modelo dentro do intervalo de confiança de 95% e sua comparação com os valores obtidos para cada parâmetro.

Tabela 23 - Parâmetros de extrusão

Temperatura nas zonas (°C)				Velocidade de Alimentação (rpm)	Vazão de Alimentação (kg/h)	Velocidade da rosca (rpm)	Torque (%)	EME (kWh/kg)
T1	T2	T3	T4					
45	60	80	110	250	10,16±0,47	391	33	98,74±9,37

T1, T2, T3 e T4 representam a temperatura em cada uma das zonas da extrusora, da zona de alimentação (Z1) à zona de saída (Z4); EME = energia mecânica específica.



Figura 22 - Extrusados otimizados do Delineamento B

Tabela 24 - Valores preditos e reais das respostas utilizadas na otimização

	Valor predito pelo modelo			Valor experimental		
	Valor predito	Limite inferior	Limite superior	Média	Desvio padrão	Coefficiente de variação
Ublend (%)	24,69	23,57	25,77	22,78	0,40	1,74
Uúmido (%)	19,22	18,65	19,79	12,65	0,40	3,16
Useco (%)	8,13	6,88	9,37	6,51	0,42	6,39
Awúmido	0,8811	0,8708	0,8911	0,5736	0,0537	9,36

Ublend = umidade dos *blends*; Uúmido = umidade dos extrusados antes da secagem em estufa; Useco = umidade dos extrusados após a secagem; Awúmido = atividade de água dos extrusados antes da secagem.

Nota-se que o valor de nenhum dos parâmetros encontra-se dentro dos limites previstos pelo modelo. O que mais se aproxima é a *Ublend*, que não sofreu influência do processo, apenas da variação das matérias-primas. A não conformidade não pode ser atribuída apenas ao modelo, pois no período entre a extrusão do delineamento experimental e a extrusão dos produtos otimizados foram realizados reparos nas peças que compõem o eixo da extrusora. Constatou-se, em outros testes, que a restauração causou o aumento da EME do sistema, tornando-se inviável a validação do modelo estatístico, pois as condições de extrusão foram modificadas.

As modificações, porém, trouxeram resultados melhores do que o esperado, uma vez que produziram produtos com umidades e atividades de água (a_w) mais baixas, e Awúmido menor do que 0,60, indicando que não haveria necessidade de posterior secagem. O mesmo ocorreu para as propriedades tecnológicas, a serem detalhadas a seguir – obtiveram-se produtos com maior IE e menor densidade e dureza do os que obtidos pelos produtos do delineamento.

Os produtos otimizados foram analisados quanto à sua composição centesimal, incluindo os conteúdos de fibra alimentar total e insolúvel; aos parâmetros tecnológicos atividade de água, índice de expansão, densidade aparente, dureza instrumental, cor instrumental (CIELab), ISA e IAA, e propriedades de pasta (RVA); aos parâmetros nutricionais e digestibilidade *in vitro* de proteínas; e à qualidade microbiológica. A Figura 23 apresenta a imagem da seção transversal dos extrusados.



Figura 23 - Imagem da seção transversal dos extrusados

5.2.2.1.1 Composição Centesimal dos Produtos Otimizados

A Tabela 25 apresenta os valores de composição centesimal dos extrusados otimizados e sua comparação com valores calculados baseados na composição das matérias-primas, para avaliação do efeito da extrusão.

Tabela 25 - Valores obtidos e estimados para a composição centesimal dos extrusados

Parâmetro	Valor obtido	Valor estimado	Valor previsto
Ublend (%)	22,78 ± 0,40	24,09	24,69
Uúmido (%)	12,65 ± 0,40	19,30**	19,22
Useco (%)	6,51 ± 0,42	6,86**	08,13
Proteínas (% b.s.)	15,50 ± 0,32	16,84	
Lipídeos (% b.s.)	4,07 ± 1,69*	03,37	
FDT (% b.s.)	8,04 ± 1,06*	14,77	
FDI (% b.s.)	5,34 ± 1,05*	04,90	
FDS (% b.s.)	2,69 ± 0,96*	07,79	
Cinzas (% b.s.)	1,91 ± 0,10	02,15	
Carboidratos (% b.s.)	70,82 ± 1,66	62,86	
Mio-inositol fosfato			
IP₆ (µmol/g)	7,39 ± 0,80	7,26	-
IP₅ (µmol/g)	0,15 ± 0,25	0	-
IP₄ (µmol/g)	0	0	-
IP₃ (µmol/g)	0	0	-

Valor obtido expresso em média ± desvio padrão; *valores com coeficiente de variação acima de 10%; **estimativas baseadas na redução de umidade obtido na extrusão e secagem do Ensaio 3 do delineamento; b.s. = base seca; Ublend = umidade dos blends; Uúmido = umidade dos extrusados antes da secagem em estufa; Useco = umidade dos extrusados após a secagem; FDT = fibra dietética total; FDI = fibra dietética insolúvel; FDS = fibra dietética solúvel, calculada por diferença entre FDT e FDI; Carboidratos = calculados por diferença (100-proteínas-lipídeos-FDT-cinzas); valor estimado = valor calculado com base na composição centesimal das matérias-primas; valor previsto = valor calculado pelo software MODDE PRO 12, a partir do modelo estatístico.

Ao observar os valores de Uúmido, nota-se que o processo de extrusão com as peças restauradas provocou uma maior redução de umidade do que anteriormente, por outro lado, Useco foi compatível com o calculado, indicando uma menor redução da umidade na estufa.

A extrusão é conhecida por causar uma redistribuição no perfil de fibras dietéticas, verificada neste projeto. Observou-se um ligeiro aumento no valor de FDI, provavelmente relacionado à formação de novos compostos insolúveis e não digeríveis, como amido resistente e complexos entre macronutrientes, que, por serem resistentes às enzimas usadas na análise, acabam sendo contabilizados como fibras dietéticas insolúveis, mesmo que não necessariamente apresentem as mesmas funções fisiológicas (ROBIN et al., 2012). Ocorreu ainda diminuição no conteúdo de FDS, que provavelmente foi degradada durante o processo, sendo reduzida a moléculas muito pequenas para detecção no teste, sendo contabilizadas como carboidratos. Robin et al. (2012) relatam uma redução nas moléculas de fibras e alteração de sua solubilidade com o aumento na energia mecânica do sistema.

Os resultados de lipídeos apresentaram um alto coeficiente de variação, o que pode ser parcialmente atribuído à formação de complexos lipídeo-amilose durante a extrusão, que não são detectados pelo método utilizado, apenas seriam detectados pelo método de extração ácida de extrato etéreo (NASCIMENTO et al., 2017).

Os valores encontrados para fitatos foram próximos aos calculados, indicando que, nas condições de extrusão utilizadas, este processo teve pouco ou nenhum efeito sobre os níveis destes compostos. A grande variação em IP₅ ocorreu pois apenas uma das replicatas de processo apresentou este monômero.

5.2.2.1.2 Propriedades Tecnológicas dos Produtos Otimizados

A Tabela 26 apresenta os resultados dos parâmetros tecnológicos avaliados. Nota-se que o a_w dos extrusados úmidos já é suficientemente baixo para a sua conservação, pois, de acordo com Fellows (2000), 0,60 é o a_w mínimo para crescimento microbiano, assim não haveria necessidade de sua posterior secagem.

Tabela 26 - Parâmetros tecnológicos dos produtos otimizados

Parâmetro	Valor	Parâmetro	Valor
Awblend	0,90 ± 0,01	IAA (%)	4,30 ± 0,10
Awúmido	0,57 ± 0,05	ISA (g/g)	21,28 ± 2,11
Awseco	0,32 ± 0,01	L*	49,05 ± 1,57
Dureza (N)¹	18,45 ± 1,98	a*	7,03 ± 0,29
IE	2,08 ± 0,08	b*	23,51 ± 0,57
Densidade (g/cm³)	0,28 ± 0,02		

¹Apresentaram coeficiente de variação acima de 10%; Awblend = atividade de água dos *blends*; Awúmido = = atividade de água dos extrusados antes da secagem em estufa; Awseco = = atividade de água dos extrusados após a secagem; IE = Índice de Expansão; IAA = Índice de Absorção de Água; ISA = Índice de Solubilidade em Água; L*, a* e b* = parâmetros de cor no sistema CIELab.

Os valores encontrados para dureza e densidade encontram-se bem abaixo daqueles encontrados para os ensaios do delineamento experimental, enquanto IE apresenta valores superiores aos do delineamento, efeitos do aumento da EME do sistema causado pela restauração das peças. Em relação à média de EME (dados não mostrados) encontrada para o delineamento, a EME durante o processamento do produto otimizado foi 69% maior. O aumento da EME está associado a produtos com menor densidade e maior índice de expansão, além de menor dureza e maior crocância. Isso ocorre porque o aumento da EME causa o aumento da gelatinização do amido e a diminuição da viscosidade da massa fluida dentro da extrusora, fatores que favorecerão o crescimento das bolhas na massa assim que ela sair pela matriz (DING et al., 2005).

Ainsworth et al. (2007), quando empregaram maiores níveis de energia mecânica, ao elevar a velocidade da rosca para extrusados com adição de 0 a 30% de RUC, encontraram maiores expansões, menores densidades aparentes e menores durezas. Por exemplo, com a adição de 30% de RUC, a 100 rpm da rosca, obtiveram-se EME igual a 122 kJ/kg, 30% de expansão, 0,89 g/cm³ de densidade aparente e 22,12 N de dureza. Já a 300 rpm, obteve-se 263,8 kJ/kg de EME, 83,5% de expansão, 0,35 g/cm³ de densidade e 14,44 N de dureza.

A viscosidade de pasta de misturas cruas ou de extrusados depende das características do amido presente na amostra, da integridade do grânulo, seu grau de gelatinização e de dextrinização. Segundo Gutkoski e El Dash (1999), o amido não-gelatinizado não absorve água à temperatura ambiente, por isso a viscosidade inicial de suspensões de matérias-primas cruas, de base amilácea, é praticamente zero, havendo um pico durante o aquecimento. Já o amido gelatinizado é capaz de absorver água e formar gel sem nenhum aquecimento, não apresentando pico durante o aquecimento, apenas queda de

viscosidade, pois a continuidade do fornecimento de energia mecânica e térmica em excesso de água vai causar a ruptura da estrutura dos grânulos.

Estudos com adição de fibras em produtos extrusados mostraram que a viscosidade de pasta nos diferentes tempos e temperaturas analisadas depende do tipo de fibra estudada, tanto para a mistura crua quanto para o produto extrusado. Brennan et al. (2008a) encontraram um aumento da viscosidade em todos os pontos com adição de goma guar, tanto nas misturas cruas, quanto nos extrusados. Por outro lado, a adição de fibra de trigo e inulina provocou a diminuição da viscosidade com o aumento de sua adição nas misturas cruas, enquanto nos extrusados provocou a diminuição da viscosidade em relação ao controle, porém um aumento da mesma com o aumento da adição (até 15%).

As análises de viscosidade de pasta dos *blends* foram realizadas sem prévia moagem ou separação por peneiras, para entender seu comportamento em condições reais. Como comentado anteriormente, o pó de malte apresenta em sua composição, além de um pó fino, muitas cascas e grãos de malte inteiros, ficando muito difícil conseguir porções homogêneas do mesmo. Isso se refletiu na análise no RVA, em uma variação enorme da viscosidade entre as replicatas, ilustrada na Figura 24a. Supõe-se que as cascas e grãos criaram uma grande resistência dentro do tubo do aparelho, sendo lidos como uma falsa alta viscosidade de pasta.

Tabela 27 - Propriedades de pasta dos extrusados otimizados

Vinicial (cP)	V _{máx} (cP)	V _{mín} (cP)	QV (cP)	V _f (cP)	TR (cP)
152,00±8,70	88,88±11,93*	40,50±4,93*	48,38±12,26**	108,88±18,15*	68,38±15,20**

Valores expressos em média ± desvio padrão. TP = temperatura de pasta; V_{máx} = viscosidade de pasta máxima; V_{mín} = viscosidade de pasta mínima a quente; QV = quebra de viscosidade (V_{máx} – V_{mín}); V_f = viscosidade final; TR = tendência à retrogradação (V_f – V_{mín}). * resultado com coeficiente de variação acima de 10%; ** resultado com coeficiente de variação acima de 20%.

A extrusão, por ser um processo que envolve altas temperaturas e alto cisalhamento, não apenas causa a gelatinização do amido, mas também a ruptura do grânulo, podendo levar a determinado grau de dextrinização. Estes fenômenos traduzem-se na viscosidade de pasta dos produtos extrusados como uma viscosidade de pasta a frio, relacionada à absorção de água pelo amido gelatinizado; queda de viscosidade com o aquecimento e manutenção a 95°C; e aumento da viscosidade com o resfriamento referente à retrogradação do amido, como ilustram as Figuras 24b e 24c, que apresentam o perfil de viscosidade dos extrusados otimizados em duas escalas diferentes.

Analisando a Figura 24c, um aumento da Figura 24b, notam-se 3 (três) diferentes perfis de viscosidade, cada um referente a uma das replicatas de processo. Mas observa-se que a extrusão foi capaz de transformar *blends* muito heterogêneos (Figura 24a) em produtos mais homogêneos, provocando, através da aplicação de temperatura, pressão e cisalhamento, modificações a nível molecular e novas interações entre as matérias-primas. Por outro lado, uma das replicatas de processo apresentou um pequeno pico de gelatinização, destacado pela circunferência verde, evidenciando que pequenas alterações na composição, causadas pelo pó de malte, causaram variações no produto final, incluindo variações no grau de gelatinização do amido na extrusora.

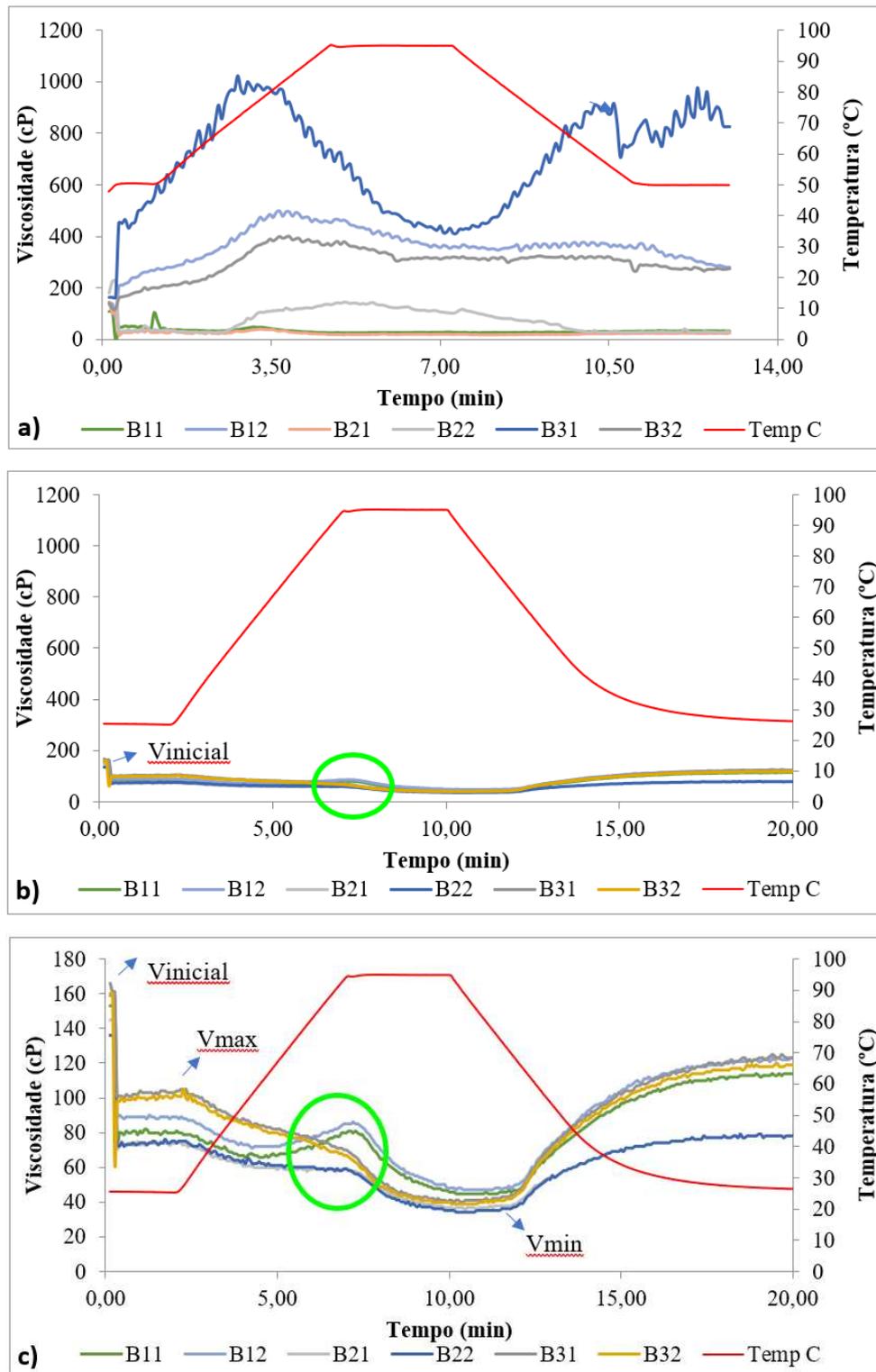


Figura 24 - Perfil de viscosidade de pasta dos *blends* (a) e dos extrusados Otimizados B (b e c), onde (a) e (b) apresentam escala de viscosidade de 0 a 1200 cP e (c) de 0 a 180 cP

Vinicial = viscosidade de pasta inicial a frio; Vmáx = viscosidade de pasta máxima; Vmín = viscosidade de pasta mínima a quente; Vf = viscosidade final; B11, B12, B21, B22, B31, B32 = amostras dos produtos extrusados, onde o primeiro número indica a triplicata de processo e o segundo a duplicata de análise; Temp C = rampa de temperatura da análise.

Observa-se que o produto otimizado apresentou um alto teor de proteínas, entretanto faz-se necessário saber se essas proteínas estão disponíveis para a digestão enzimática, uma vez que proteínas vegetais estão muitas vezes ligadas ao ácido fítico e outros fatores anti-nutricionais (FANs). Baseando-se no método proposto por Ainsworth et al. (2007), analisou-se a digestibilidade *in vitro* das proteínas (DIVP) nos *blends* e nos extrusados otimizados, sendo os dados apresentados na Tabela 28.

Processos com aplicação de calor e energia mecânica geralmente provocam o aumento da DIVP por inativação de FANs, degradação de ácido fítico e desnaturação proteica, a qual facilita a ação enzimática. Dahlin e Lorenz (1993) obtiveram resultados significativamente diferentes dependendo das condições de processo da extrusão. Por exemplo, para a maioria dos cereais estudados, uma umidade de processo de 25% não causou alteração significativa no DIVP, enquanto 15% de umidade provocou seu aumento.

Ainsworth et al. (2007), testando adições de RUC de 0 a 30% e velocidades de rosca de 100, 200 e 300 rpm, encontraram maiores valores de DIVP com o aumento da velocidade da rosca de 100 rpm para 200 rpm em extrusados com adição de até 10% de RUC. Uma adição maior de RUC, apesar de aumentar os níveis de proteínas nos extrusados, não gerou um aumento da DIVP em relação ao controle com 0% de RUC a 200 rpm e a 300 rpm, nem em relação aos extrusados com 10% de RUC, em qualquer velocidade da rosca. Os autores sugerem que o aumento das proteínas é contrabalanceado pelo aumento da porcentagem de ácido fítico, ao qual é atribuída a formação de complexos com proteínas, interferindo na sua digestibilidade.

Baseando-se no método proposto por Ainsworth et al. (2007), analisou-se a digestibilidade *in vitro* das proteínas (DIVP) nos *blends* e nos extrusados otimizados. Os dados são apresentados na Tabela 28.

Tabela 28 - Digestibilidade *in vitro* de proteínas (DIVP)

<i>Blend</i>	<i>Extrusado</i>
76,73 ± 1,05 ^a	78,98 ± 2,63 ^a

*Letras iguais indicam diferença não significativa a p<0,05.

No presente trabalho, não foi encontrada diferença significativa, a p<0,05, entre a DIVP dos *blends* e dos extrusados. Este resultado pode ser atribuído tanto às condições de extrusão utilizadas, que podem não ter sido eficientes para o aumento da digestibilidade, quanto pela formação adicional de complexos entre proteínas e outros compostos, como ácido

fítico e lipídeos, não acessíveis pela tripsina e não presentes nos *blends*. Além disso, fitases provenientes do PDA e PDM, que poderiam estar ativas nos *blends*, seriam inativadas durante a extrusão (KAUR e SATYANARAYANA, 2009; HÍDVÉGI e LÁSZTITY, 2002; GREINER e KONIETZNY, 2006; DAHLIN e LORENZ, 1993; AINSWORTH et al., 2007).

5.2.3 Análises Microbiológicas

Todas as análises realizadas para as matérias-primas foram repetidas para os *blends* e produtos secos otimizados (estufa 80°C/30 min). Os produtos intermediários, produtos extrusados que não passaram pela secagem em estufa, foram apenas analisados quanto à contagem total de bactérias mesófilas aeróbias, coliformes totais e contagem de bolores e leveduras, para avaliação do efeito da extrusão sobre a carga microbiana. Os resultados encontram-se na Tabela 29. A RDC 12, de 02 de janeiro de 2001, da ANVISA, determina como limite máximo para “cereais matinais, extrudados”, 1 (um) Coliforme termotolerantes/g de amostra (BRASIL, 2001a).

Tabela 29 - Resultado das análises microbiológicas dos *blends* e produtos extrusados úmidos e secos

	BA	EUA	ESA	BB	EUB	ESB
Contagem total (log₁₀ UFC/g)	3,85	3,70	3,74	7,54	5,61	4,65
Esporos mesófilos (log₁₀ UFC/g)	3,43	*	2,15	3,59	*	0,95
Esporos termófilos (log₁₀ UFC/10g)	2,93	*	2,70	nd	*	nd
Bolores e leveduras (log₁₀ UFC/g)	3,60	3,48	2,81	6,11	4,01	3,97
Leveduras (log₁₀ UFC/g)	3,60	2,18	2,81	6,11	4,00	3,97
Bolores (log₁₀ UFC/g)	nd	3,45	nd	2,66	2,30	2,00
Salmonella (em 25 g)	*	*	aus.	*	*	aus.
Bacillus cereus (log₁₀ UFC/10 g)	*	*	2,00	*	*	2,30
Coliformes totais (NMP/g)	4,6 x10 ²	2,4 x10 ⁴	9,3 x10 ³	>1,1 x10 ⁵	1,1 x10 ⁵	2,4 x10 ⁴
Coliformes termotolerantes (NMP/g)	nd	nd	nd	nd	nd	nd

*Produto não analisado. nd = não detectável – abaixo do limite de detecção do método; aus. = ausente; BA – *Blend* A; EUA – extrusado úmido A; ESA – extrusado seco A; BB – *Blend* B; EUB – extrusado úmido B; ESB – extrusado seco B; UFC = unidade formadora de colônia; NMP = número mais provável.

O *Blend* A (BA) foi preparado com RUC, seco a 90°C por ~14h, LEV e GRITS, um dia antes da extrusão e foi analisado no dia posterior a esta, sendo armazenado sob

refrigeração. As matérias-primas ficaram armazenadas por 7 meses, sendo o RUC (úmido) e a LEV em condições de congelamento e o GRITS, em bombonas à temperatura ambiente.

Observou-se no GRITS o aparecimento de insetos (carunchos e mariposas), pragas comuns a esse tipo de matéria-prima, que, porém, podem estar relacionadas ao aumento da carga microbiana do produto, principalmente à carga de coliformes totais. Esse pode ter sido o motivo do aumento da população de coliformes totais em relação às matérias-primas. Já a menor população de levedura pode ser atribuída ao congelamento, que provavelmente causou a inativação de parte das leveduras viáveis na LEV. As populações dos outros grupos presuntivos apareceram no *Blend A* na mesma ordem de grandeza em que apareceram nas matérias-primas.

O *Blend B* (BB), formado por RUC úmido, LEV, PDM e PDA, apresentou uma contagem alta de microrganismos de todos os grupos analisados. Notou-se, portanto, a grande contribuição do PDM para a microflora do *blend*, com sua alta contagem de mesófilos aeróbios, coliformes totais e leveduras. Observou-se, entretanto, uma diminuição na população de fungos e de esporos termófilos em relação ao encontrado nas matérias-primas.

Ao observar-se os resultados das análises microbiológicas dos extrusados otimizados úmidos (EUA) e extrusados otimizados secos (ESA) do Delineamento A, notou-se que não houve diminuição expressiva da carga microbiana do *Blend A* após o processo de extrusão e secagem, observando-se ainda o aumento da população de coliformes totais e fecais, além de alterações na população de bolores e leveduras. Pode-se dizer que o processo não foi capaz de eliminar a carga microbiana da matéria-prima, nas condições e proporções estudadas. Vários fatores podem ter contribuído para isto: a capacidade protetora da matriz alimentícia, rica em fibras e lipídeos; contaminação cruzada entre os experimentos A e B, uma vez que foram processados no mesmo equipamento, no mesmo dia; heterogeneidade do *blend* e de sua concentração de microrganismos; multiplicação do erro pelas diversas amostragens realizadas até a análise microbiológica; heterogeneidade do processo, afetando sua letalidade.

Analisando-se os resultados dos testes microbiológicos de BB, EUB e ESB, extrusados otimizados úmidos e extrusados otimizados secos do Delineamento B, respectivamente, verifica-se a diminuição da carga microbiana com o processamento. O processo de extrusão foi capaz de diminuir 2 log na população de mesófilos aeróbios (contagem total) e leveduras, além de diminuir a população de coliformes totais, enquanto a secagem em estufa (80°C/30 min) provocou a diminuição de 1 log nas populações analisadas,

tendo um efeito menos pronunciado na população de bolores e leveduras. O processo como um todo mostrou eficiência na diminuição em 2,6 log de esporos mesófilos.

O processo mostrou-se eficiente para a diminuição da carga de *B. cereus* para níveis aceitáveis, de acordo com os *Guidelines for Assessing the Microbiological Safety of Ready-to-Eat Foods Placed on the Market*, do governo da Grã-Bretanha (HEALTH PROTECTION AGENCY, 2009), que estabelece um nível máximo de 10^3 desse microrganismo para um alimento pronto para consumo ser considerado satisfatório. Assim, nota-se que a extrusão é capaz de diminuir a população de microrganismos de uma determinada amostra dependendo das condições de processo e da matéria-prima, porém, não a elimina. Portanto, é necessário trabalhar com matérias-primas de qualidade, controlar as condições de processo e assegurar uma umidade final abaixo de 10% para obter um produto seguro e estável em temperatura ambiente.

O único critério estabelecido pela legislação brasileira para este tipo de produto, como exposto acima, é o de no máximo 1 (um) coliforme termotolerante/g de amostra, para o qual os extrusados estão em conformidade (BRASIL, 2001a). Oluwole et al. (2013) e *Health Protection Agency* (2009) discorrem sobre a importância da contagem total de mesófilos em placas como indicativo de qualidade de produtos de alimentação. Países como Nova Zelândia, em seu *Compendium of Microbiological Criteria* (FSANZ, 2016), e Grã-Bretanha, nos *Guidelines for Assessing the Microbiological Safety of Ready-to-Eat Foods Placed on the Market* (HEALTH PROTECTION AGENCY, 2009), estabelecem um máximo de 10^4 UFC/g para alimentos que passaram por tratamento térmico, excluindo-se produtos fermentados, no caso do primeiro, e produtos de panificação ou confeitaria, sem creme, no início de sua vida de prateleira, no caso do segundo, para que estes sejam considerados satisfatórios. Os extrusados, se considerados como alimentos prontos-para-o-consumo, se encaixariam nesses critérios. Os extrusados B, no entanto, apresentam um valor superior a 10^4 , indicando que o seu processo e/ou matérias-primas deveriam ser revistos.

Os mesmos guias apresentam critérios para a família *Enterobacteriaceae*, que inclui coliformes, e também é utilizada como grupo indicativo de qualidade higiênica de alimentos prontos para consumo. Uma contagem menor que 10^2 é considerada satisfatória; resultados entre 10^2 a 10^4 indicam, para alimentos recém-processados, alguma falha de processo e necessidade de investigação; já acima de 10^4 , os alimentos são considerados impróprios para consumo e uma revisão dos controles de processo e da higienização e sanitização se faz necessária, pois há indicação de falta de higiene, controles inadequados ou

contaminação cruzada após o processamento (HEALTH PROTECTION AGENCY, 2009; FSANZ, 2016). Os extrusados A e B apresentam contagem de coliformes próxima a 10^4 , considerando que as *Enterobacteriaceas* englobam um número maior de bactérias, provavelmente sua contagem mostraria valores superiores a 10^4 , considerados insatisfatórios.

Os resultados indicam que há necessidade de melhorar a qualidade microbiológica dos subprodutos antes de sua reutilização por extrusão termoplástica, uma vez que esta não se mostra eficiente em diminuir a carga microbiológica para produtos ricos em fibras e lipídeos. Com a qualidade microbiológica que apresentam, os extrusados poderiam ser utilizados como ingrediente para outros alimentos para humanos ou para alimentação de animais de grande porte, para qual o Brasil não tem critérios microbiológicos estabelecidos.

5.3 Discussão Geral

A análise da composição centesimal mostrou que os subprodutos, em sua maioria, contêm altas quantidades de fibras e proteínas, que poderiam ser reintegradas à cadeia alimentar. Os grandes desafios na utilização de subprodutos como ingredientes na indústria de alimentos são a instabilidade microbiológica dos subprodutos, a heterogeneidade de sua composição, e o alto conteúdo de água de alguns deles. É necessário assegurar a estabilidade e a segurança química e microbiológica dos subprodutos, considerando os pontos críticos de controle do processo, de forma a prevenir a sua deterioração durante o armazenamento, transporte e seu processamento, para se obter um produto final seguro (REPRO, 2008). Além disso, fazem-se necessários estudos para avaliar a eficiência energética de métodos combinados para sua conservação, considerando processos para diminuição da umidade e aumento da qualidade microbiológica. Para que isso ocorra, é preciso que a agroindústria veja os resíduos como coprodutos, dando-lhes sua devida importância.

As análises microbiológicas dos subprodutos mostraram que enquanto o pó de malte (PDM) apresenta uma carga microbiológica muito alta, o pó de arroz (PDA) destaca-se como um produto de boa qualidade, apesar de ter apresentado uma pequena carga de coliformes termotolerantes. Estes dois subprodutos são obtidos da mesma maneira, porém no processamento de bebidas diferentes, indicando que é possível obter um PDM de melhor qualidade com pequenos ajustes na sua obtenção.

Uma das formas escolhidas para explorar o resíduo úmido de cervejaria (RUC), resíduo gerado em maior volume pela indústria cervejeira, foi o ajuste de sua umidade para 10%, a partir de secagem em estufa, e composição de *blends* com excesso de levedura (LEV),

com 85,5% de umidade, e *grits* de milho (GRITS), com 11,3% de umidade, uma vez que teríamos que trabalhar com um limite de umidade dos *blends* de 30% para garantir uma alimentação adequada na extrusora. Foram definidos, para a extrusão, uma velocidade de alimentação de 250 rpm, velocidade da rosca de 390 rpm e temperatura das zonas (da zona de alimentação até a zona de saída) de 45, 60, 80 e 110°C. A secagem posterior à extrusão foi feita em estufa a 80°C por 30 minutos.

O delineamento de misturas com 12 (doze) ensaios, dos quais 3 (três) foram repetições do ponto referente ao centroide do simplex, chamado de Delineamento A, gerou produtos secos com alta concentração de proteínas (13 a 20%), baixa expansão (0,94 a 1,15) e alta densidade (0,73 a 0,94 g/cm³), além de grande variação nos valores de dureza (54 a 138 N) e umidade (4,65 a 20,45%). Estes resultados foram atribuídos à alta porcentagem de fibras insolúveis e de proteínas do RUC, além da alta umidade dos *blends*, fatores que geralmente levam a um maior número de pequenas células de ar, com maior espessura das paredes, e maior resistência à quebra.

Notou-se, entretanto, que os menores valores de dureza foram obtidos para as adições máximas de RUC e mínimas dos outros componentes, indicando que uma quantidade muito alta de RUC confere estrutura mais frágil e quebradiça ao extrusado, provavelmente por sua alta quantidade de fibra insolúvel interferir na coesão da massa.

A proporção de matérias primas na mistura teve grande impacto sobre a vazão de alimentação dos *blends*. LEV e GRITS expressaram efeitos opostos: a primeira, um efeito negativo, e o segundo, um efeito positivo sobre a vazão. De acordo com a matriz de correlação (Apêndice 1), a vazão de alimentação demonstrou grande influência sobre todos os outros parâmetros, com exceção da dureza, mostrando-se um parâmetro muito importante a ser controlado.

A otimização do produto A, que visou um produto com baixa umidade (Uúmido), alto teor proteico, baixa densidade e baixa dureza – parâmetros que, juntamente ao índice de expansão e vazão de alimentação, produziram modelos estatísticos significativos, a $p < 0,05$ –, gerou extrusados quebradiços e ocos, com baixos valores de dureza (21,18 N), densidade (0,33 g/cm³) e umidade (8,90%), menores do que os calculados pelo software MODDE PRO 12 para o *blend* otimizado. Foram alcançados teores altos de proteínas, 16,23%, fibras dietéticas totais, 44,57%, e baixos de carboidratos, 26,10%, valores que podem associar o produto a apelos de saudabilidade. Porém, o teor de lipídeos encontrado também foi alto, 10,2%, associado à alta quantidade de lipídeos do RUC, 13,3%.

Atribuiu-se o efeito positivo sobre as propriedades tecnológicas dos extrusados à restauração das peças que compõem o eixo da extrusora, realizada no período entre a extrusão dos *blends* do delineamento e os *blends* otimizados. O reparo provocou o aumento da energia mecânica específica (EME) do sistema, fator associado ao aumento do índice de expansão (IE), diminuição da dureza e da densidade em trabalhos envolvendo diferentes fontes de cereais e tubérculos (MERCIER et al., 1989). Já o fato de os produtos terem saído ocos e com muitas falhas em sua estrutura, pode ser relacionado ao alto teor de fibras insolúveis e de lipídeos em sua composição.

O alto teor de fibras interfere nas propriedades viscoelásticas da massa, rompendo a estrutura da fase contínua de amido e aumentando sua viscosidade aparente na seção anterior à matriz da extrusora. Isso pode aumentar a resistência ao crescimento de bolhas na saída do equipamento, provocando a diminuição do índice de expansão e o aumento da densidade aparente. Há alteração também da elasticidade da massa, que diminui com o aumento do teor de fibras, provavelmente devido às baixas propriedades de adesão na interface entre fibras insolúveis e amido, com baixa compatibilidade química entre si. Além disso, o aumento da proporção de fibras insolúveis aumenta os pontos de ruptura na membrana das bolhas, tanto por interferência estérica, quanto pelo fato dessa ruptura ser favorecida a partir de certa espessura da parede das células, a qual aumenta com a introdução das moléculas grandes de fibras no sistema (ROBIN et al., 2012).

Lipídeos têm propriedades lubrificantes e atuam diminuindo a aderência e a fricção entre as superfícies da rosca e do cilindro da extrusora e a massa fluida, provocando a diminuição do cisalhamento e da energia mecânica específica (EME) do sistema (STEEL et al., 2012). É possível que o excesso de lubrificação combinado com a baixa propriedade de adesão das fibras e a ruptura da fase contínua tenham levado à extrusão de um produto descontínuo, oco e quebradiço.

A outra forma escolhida para explorar os subprodutos foi a combinação de RUC (78,5% de umidade), LEV (85,5% de umidade) e PDM (7,55% de umidade) com uma quantidade de PDA (9,8% de umidade) suficiente para que os *blends* centrais de um delineamento de misturas tivessem umidade menor que 30%, sendo definido um nível de 55% de adição. O modelo de *screening*, utilizado para se investigar a importância do efeito de variáveis quando não se sabe muito sobre elas, contou com 9 (nove) ensaios, sendo 3 (três) repetições do ponto equivalente ao centroide do simplex de misturas, sendo extrusado com as mesmas condições de extrusão e secagem definidas para o Delineamento A.

Os produtos secos obtidos mostraram umidades em faixas aceitáveis ($\leq 10\%$), maiores ISA (21,0 a 24,3%) e índices de expansão (1,35 a 1,83), e menores densidades (0,45 a 0,71 g/cm³) e durezas (37 a 89 N) do que os do delineamento anterior. No entanto, a quantidade de proteínas também foi alta, 16,3 a 17,5%. Essas propriedades foram atribuídas à influência do PDA, componente majoritário dos *blends*, com 60% de carboidratos e 16% de proteínas.

A otimização para este delineamento considerou os parâmetros que obtiveram modelo significativo, a $p < 0,05$: umidade dos *blends* (*Ublend*), atividade de água e umidade dos extrusados antes da secagem em estufa (*Aúmido* e *Uúmido*) e umidade do produto seco (*Useco*). Os critérios foram escolhidos visando um produto intermediário entre o Ensaio 3 e os Ensaios 7, 8 e 9, referentes ao centroide do delineamento, pois foram os que apresentaram melhores propriedades tecnológicas, além de teor proteico intermediário.

Os produtos obtidos também demonstraram os efeitos do aumento da EME do sistema causado pela restauração das peças da extrusora. A redução de umidade na extrusora foi mais alta do que para os ensaios do delineamento, produzindo extrusados com umidade menor que 15% e a_w menor que 0,6, indicando que não haveria necessidade da posterior secagem em estufa. Os valores de dureza (18,45 N) e densidade (0,28 g/cm³) foram menores do que os encontrados para o delineamento, enquanto os de IE (2,08) foram maiores.

Notou-se a influência da extrusão termoplástica na redistribuição do perfil de fibras dietéticas. O aumento das fibras insolúveis (FDI) pode estar associado à formação de amido resistente e complexos entre nutrientes. Já a grande diminuição das fibras solúveis (FDS), que provocou a diminuição das fibras dietéticas totais (FDT), pode ter ocorrido devido à degradação das FDS em compostos de tamanho menor que o detectado pelo método, contabilizados como carboidratos.

Atribuiu-se o alto coeficiente de variação dos resultados das análises do Delineamento B e dos produtos otimizados B, principalmente para as análises tecnológicas, como dureza e viscosidade de pasta, à influência do PDM, subproduto altamente heterogêneo, composto por cascas de malte, grãos inteiros de baixa densidade e pó decorrente do atrito entre os grãos durante seu transporte.

Analisando-se a qualidade microbiológica dos *blends* e dos produtos otimizados dos dois delineamentos, para verificar se o processo foi efetivo na redução da carga microbiológica dos subprodutos a valores aceitáveis, observou-se que os *blends* mostraram alguma diferença em relação às matérias-primas, associadas ao tempo de armazenamento. Os

GRITS, que foram infestados por insetos, podem ter conferido ao *Blend A* uma maior quantidade de coliformes totais, enquanto a quantidade de leveduras viáveis pode ter diminuído devido ao congelamento da LEV. Já o *Blend B* mostrou em sua carga microbiológica a grande influência do PDM.

A análise dos extrusados úmidos e secos do otimizado A (EUA e ESA, respectivamente) mostrou que o processo não foi efetivo na diminuição da carga microbiana. Foram levantadas quatro hipóteses, não excludentes, para explicar esse fato: (i) efeito protetor da matriz alimentícia, rica em fibras insolúveis e lipídeos, componentes comumente associados à proteção de microrganismos; (ii) contaminação cruzada entre os experimentos A e B, que foram processados no mesmo equipamento, no mesmo dia; (iii) heterogeneidade do *blend*, composto de partículas grandes e de densidades diferentes, dificultando uma amostragem eficaz; (iv) heterogeneidade no processo, devido a oscilações na alimentação volumétrica, levando a pequenas diferenças na sua letalidade ao longo do experimento.

Por outro lado, a análise dos produtos otimizados B mostrou que, para esta composição de *blend*, o processo foi eficaz na diminuição da carga microbiana. A extrusão causou a diminuição de 2 log nas populações de mesófilos aeróbios, leveduras, além de diminuição na carga de coliformes totais. A secagem em estufa provocou a diminuição adicional de 1 log na população de mesófilos aeróbios. A população de bolores e leveduras mostrou resistência ao processo, principalmente à secagem em estufa, que aplica temperaturas mais baixas a um produto com uma matriz complexa, enquanto a população de esporos mesófilos foi diminuída em 2,6 log, aproximadamente 70%.

Em relação às matérias-primas, ambos os processos causaram redução na população de *Bacillus cereus* para níveis considerados aceitáveis.

6 CONCLUSÕES

A análise da composição centesimal das matérias-primas mostrou que necessários são os estudos para exploração e reutilização de subprodutos agroindustriais, pois estes ainda contêm quantidades expressivas de nutrientes e compostos funcionais, principalmente proteínas e fibras, além de outros compostos bioativos, como polifenóis, que não foram do escopo deste projeto. A avaliação microbiológica mostrou diferentes perfis para diferentes subprodutos, e a necessidade de as indústrias tentarem assegurar a qualidade microbiológica de seus subprodutos, ao mudarem algumas etapas de seus processos e ao passarem a considerar esses resíduos como coprodutos.

O pó de arroz (PDA), subproduto da indústria de saquê, mostrou-se um ingrediente muito interessante para a extrusão, uma vez que apresenta alta quantidade de amido e de proteínas, certa quantidade de fibra solúvel, além de carga microbiológica baixa. Apresenta-se na forma de um pó fino e branco, de baixa umidade e fácil manipulação. Por outro lado, o pó de malte (PDM) exibiu grande heterogeneidade, uma mistura de pó e cascas de grãos, alta carga microbiológica e exigiu cuidado em sua manipulação, pois o pó muito fino causou incômodo aos manipuladores. Para a utilização deste subproduto, seriam necessárias algumas mudanças na forma como ele é obtido na indústria hoje.

Com este estudo, foi possível notar a importância de diferentes proporções de matérias-primas nos efeitos da extrusão termoplástica. Mantendo-se os parâmetros de processo constantes e variando a composição dos *blends*, obtiveram-se produtos com propriedades tecnológicas e nutricionais variadas. Além disso, observou-se que pequenas alterações no equipamento ou no processo causaram grandes mudanças nas propriedades tecnológicas dos extrusados, como foi notado a partir da restauração das peças que compõem a rosca da extrusora.

A aplicação de dois delineamentos, com composições bem diferentes, explorando duas alternativas na utilização dos subprodutos, uma com uma maior fração de RUC previamente seco, resultando em maior quantidade de fibras insolúveis, e outra, utilizando os subprodutos sem nenhum pré-processamento em conjunto com uma quantidade maior de um ingrediente rico em amido, mostrou que a utilização da extrusão termoplástica para a transformação de subprodutos agroindustriais em uma diversidade de produtos ou ingredientes para alimentação humana ou animal, explorando diferentes propostas, é possível.

Os produtos decorrentes do Delineamento A revelaram, através de suas propriedades tecnológicas, o efeito marcante da adição de altas quantidades de fibras

insolúveis na estrutura dos extrusados, os quais obtiveram altos valores de dureza e densidade e baixos valores de índice de expansão, ISA e IAA. Já os extrusados do Delineamento B, com uma quantidade maior de amido em sua formulação, porém ainda com uma quantidade interessante de fibras e alta de proteínas, apresentaram um maior índice de expansão e ISA, além de menor dureza e densidade aparente, em relação ao delineamento anterior.

Apesar de não planejado, foi possível avaliar os efeitos de uma maior energia mecânica específica (EME) no sistema, decorrente da restauração das peças que compõem o eixo da extrusora, ocorrida entre a extrusão dos *blends* dos delineamentos e dos *blends* otimizados. Os produtos otimizados apresentaram durezas e densidades muito inferiores às encontradas na primeira fase do projeto, e, enquanto o índice de expansão do otimizado B se mostrou superior aos do Delineamento B, o otimizado A saiu da extrusora com formato retorcido e oco, com falhas em sua estrutura e textura quebradiça.

Conclui-se que é possível utilizar a extrusão termoplástica para a transformação de subprodutos agroindustriais em novos produtos ou ingredientes com diferentes propriedades tecnológicas e nutricionais, para alimentação humana ou animal. Porém, a maioria dos subprodutos precisa passar por um pré-tratamento, como diminuição da umidade, inativação térmica de microrganismos viáveis, refrigeração, etc., e a indústria precisa passar a ver esses resíduos como coprodutos, vendo a importância de obtê-los com uma maior homogeneidade e menor carga microbiológica.

De forma a complementar as informações do presente trabalho, sugere-se a análise de imagem de todos os extrusados, para avaliação de sua estrutura; e, para uma melhor avaliação da sua composição nutricional e dos efeitos do processo de extrusão: a análise ácida de extrato etéreo, para quantificar os lipídeos ligados a proteínas, verificando interações; a análise de amido resistente e da composição de fibras, para maior compreensão da alteração do perfil de fibras dietéticas; a análise da composição e da biodisponibilidade de aminoácidos e minerais, para entender o que causou sua perda durante o processo; e a análise de fenólicos totais e outros compostos bioativos.

Além disso, caso definida a finalidade do produto para alimentação animal, seria interessante realizar análises normalmente utilizadas para avaliar este tipo de produto (fibra detergente neutro, fibra detergente ácido, ou fibra bruta, energia metabolizável, extrato etéreo, extrato livre de nitrogênio, etc.), e estudos *in vivo* para verificar o efeito da inclusão do produto na alimentação dos animais (consumo, ganho de peso, produção de leite, etc.).

Sugere-se, para trabalhos futuros, o estudo de um método eficiente e de baixo custo para diminuição da umidade de RUC e/ou LEV, e a utilização do produto obtido em *blends* com diferentes proporções de RUC, LEV e PDA, o qual mostrou alto desempenho e uma composição muito interessante para a extrusão. Recomenda-se que, para esse trabalho, seja definido um público consumidor e uma finalidade, para que se possam determinar as condições de extrusão, visando um produto com características definidas.

7 REFERÊNCIAS

- AACCI. AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved Methods**, 11th ed., St. Paul, 2011.
- ADEDOKUN, M.O.; ITIOLA, O.A. Material properties and compaction characteristics of natural and pregelatinized forms of four starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 818-824, 2010.
- AINSWORTH, Paul et al. Effect of brewers spent grain addition and screw speed on the selected physical and nutritional properties of an extruded snack. **Journal of Food Engineering**, v. 81, n. 4, p. 702-709, 2007
- ALTAN, Aylin; MCCARTHY, Kathryn L.; MASKAN, Medeni. Effect of screw configuration and raw material on some properties of barley extrudates. **Journal of Food Engineering**, v. 92, n. 4, p. 377-382, 2009.
- ALVIM, Isabela Dutra. **Efeito da extrusão termoplástica sobre propriedades funcionais e nutricionais de farinhas a base de milho, caseína e derivados de levedura**. 2001. 104 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Ciência da Nutrição, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.
- ANDERSON, R. A. Water absorption and solubility and amylograph characteristics of roll-cooked small grain products. **Cereal Chemistry**, v. 59, n. 4, p. 265-269, 1982.
- ANDERSON, R. A.; CONWAY, H. F.; PFEIFER, V. V.; GRIFFIN JR., E. L. Gelatinization of corn grits by roll and extrusion cooking. **Cereal Science Today**, Minneapolis: AACC, v.14, nº1, p.4-7, 1969.
- ANDERSON, R. A.; CONWAY, H.F.; PEPLINSKI, A. J. Gelatinization of corn grits by roll cooking, extrusion cooking and steaming. **Starch-Stärke**, v. 22, n. 4, p. 130-135, 1970.
- AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. Arlington, 2005.
- BARTH HAAS Group. **The Barth Reports – Hops 2014/2015**. 2015. Disponível em: <http://barley-malt.ru/wp-content/uploads/2015/08/barthreport_2014-2015_en.pdf>. Acesso em: 04/2016
- BARTH HAAS Group. **The Barth Reports – Hops 2016/2017**. 2017. Disponível em: <<http://www.barthhaasgroup.com/images/mediacenter/downloads/pdfs/412/barthbericht20162017en.pdf>>. Acesso em: 12/2017
- BHATTACHARYA, M.; HANNA, M. A. Effect of lipids on the properties of extruded products. **Journal of food science**, v. 53, n. 4, p. 1230-1231, 1988.

- BIASUTTI, Elisa Augusta Rolim. **Blendas poliméricas e nanocompósitos à base de amido: propriedades mecânicas, estruturais e de barreira e compostagem em solo simulado**. 2011. 136 f. Tese (Doutorado) - Curso de Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.
- BJÖRCK, I.; ASP, N.-G. The effects of extrusion cooking on nutritional value—a literature review. **Journal of Food Engineering**, v. 2, n. 4, p. 281-308, 1983.
- BLIGH, E. Graham; DYER, W. Justin. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959
- BOTHAST, R. J.; ROGERS, R. F.; HESSELTINE, C. W. Microbiology of corn and dry milled corn products. **Cereal Chemistry**, v. 51, n. 5, p. 829-838, 1974.
- BRASIL. Decreto Nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei no 8.918, de 14 de julho de 1994, que “dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas”. Publicado no Diário Oficial da União de 05/06/2009 Seção 1, Página 20.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 54, de 5 de novembro de 2001. Adota o Regulamento Técnico MERCOSUL de produtos de cervejaria. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 7 nov. 2001b. Seção 1.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 4, de 23 de fevereiro de 2007. Adota o Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos fabricantes de produtos destinados à alimentação animal e o roteiro de inspeção. Diário Oficial da União, DF, 1 mar. 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC ANVISA/MS nº. 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 10 jan. 2001a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 65, de 29 de novembro de 2011. Dispõe sobre a aprovação de uso de aditivos alimentares para fabricação de cervejas. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 29 nov. 2011
- BRENNAN, Margaret A. et al. Effect of inclusion of soluble and insoluble fibres into extruded breakfast cereal products made with reverse screw configuration. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 43, n. 12, p. 2278-2288, 2008.
- BRENNAN, Margaret A. et al. Impact of guar and wheat bran on the physical and nutritional quality of extruded breakfast cereals. **Starch-Stärke**, v. 60, n. 5, p. 248-256, 2008.

- BRIGGS, Dennis Edward et al. **Brewing: science and practice**. Elsevier, 2004.
- BRUST, Luís Armando C. et al. Enfermidades em bovinos associadas ao consumo de resíduos de cervejaria. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s.l.], v. 35, n. 12, p.956-964, dez. 2015. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2015001200004>.
- CANADÁ/ ENVIRONMENT CANADA, Technical pollution prevention guide for brewery and winery operations in the Lower Frasier Basin, Environment Canada, Vancouver, 1997.- 101p.
- CARDOSO, Carlos Eduardo. **Tecnologia Cervejeira – Módulo: Cevada e Malte Cervejeiros**: Vassouras: Senai - CETEC Alimentos e Bebidas, 2007.
- CARVALHO, Carlos W. P. et al. Relative effect of particle size on the physical properties of corn meal extrudates: Effect of particle size on the extrusion of corn meal. **Journal of Food Engineering**, v. 98, n. 1, p. 103-109, 2010.
- CARVALHO, Sérgio et al. Características da carcaça de cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes resíduos agroindustriais. **Agrarian**, v. 5, n. 18, p. 409-416, 2012
- CARVALHO, Sérgio et al. Economicidade e desempenho produtivo de cordeiros confinados submetidos a dietas com resíduos agroindustriais. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 1, p. 36-44, 2016
- CHANG, Y. K.; SCHMIELE, M.; BUSTOS, F.M. Alterações físico-químicas do alimento durante o processo de extrusão. In: I Congresso Internacional sobre Nutrição de Animais de Estimação - VIII Simpósio sobre Nutrição de Animais de Estimação, 2009. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal-CBNA, 2009. v. 1. p. 55-70.
- CHEFTEL, Jean Claude. Nutritional effects of extrusion-cooking. **Food chemistry**, v. 20, n. 4, p. 263-283, 1986.
- CISA - Centro de Informações Sobre Saúde e Álcool. **Consumo de álcool e preferência de bebida**. Disponível em: <<http://www.cisa.org.br/artigo/307/consumo-alcool-preferencia-bebida.php>>. Acesso em: 09/2015.
- COLLAR, C.; SANTOS, E.; ROSELL, C. M. Significance of dietary fiber on the viscometric pattern of pasted and gelled flour-fiber blends. **Cereal Chemistry**, v. 83, n. 4, p. 370-376, 2006.
- COLONNA, P., TAYEB, J., MERCIER, C. Extrusion cooking of starch and starchy products. In C. Mercier, P. Linko, & J. M. Harper (Eds.), **Extrusion cooking**. Minnesota: AACC, 1989.

- COMPÊNDIO Brasileiro De Alimentação Animal. São Paulo: SINDIRAÇÕES. **Campinas: CBNA**, 2017. Disponível em: <<http://sindiracoes.org.br/produtos-e-servicos/compendio-brasileiro-de-alimentacao-animal/>>. Acesso em 11/2017.
- CORNELL, John A. **Experiments with mixtures: designs, models, and the analysis of mixture data**. John Wiley & Sons, 2011.
- DAHLIN, K.; LORENZ, K. Protein digestibility of extruded cereal grains. **Food Chemistry**, v. 48, n. 1, p. 13-18, 1993.
- DING, Qing-Bo et al. The effect of extrusion conditions on the functional and physical properties of wheat-based expanded snacks. **Journal of Food Engineering**, v. 73, n. 2, p. 142-148, 2006.
- DING, Qing-Bo et al. The effect of extrusion conditions on the physicochemical properties and sensory characteristics of rice-based expanded snacks. **Journal of Food Engineering**, v. 66, n. 3, p. 283-289, 2005.
- EMBRAPA GADO DE LEITE (Brasil). Embrapa. **Sistemas de produção de leite para diferentes regiões do Brasil**. 2011. Disponível em: <<http://www.cnpql.embrapa.br/sistemaproducao/>>. Acesso em: set. 2017
- ERIKSSON, Lennart; JOHANSSON, Erik; WIKSTRÖM, Conny. Mixture design—design generation, PLS analysis, and model usage. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 43, n. 1, p. 1-24, 1998.
- FARAONI, Aurélia Santos et al. Desenvolvimento de um suco misto de manga, goiaba e acerola utilizando delineamento de misturas. **Ciência Rural**, v. 42, n. 5, p. 911-917, 2012
- FĂRCAȘ, Anca et al. Brewers' spent grain—A new potential ingredient for functional foods. **Journal of Agroalimentary Processes and Technologies**, v. 20, n. 2, p. 137-141, 2014.
- FELLOWS, Peter. **Food processing technology—Principles and practice**. 2. ed. Woodhead Publishing, Cambridge, UK, 2000. 575 p.
- FERREIRA, I. M. P. L. V. O. et al. Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, n. 2, p. 77-84, 2010.
- FERRINHO, A. M. et al. Resíduos de cervejaria: uma alternativa na nutrição animal. **Anais do III Simpósio de Sustentabilidade & Ciência Animal**, 2013.
- FILLAUDEAU, Luc; BLANPAIN-AVET, Pascal; DAUFIN, Georges. Water, wastewater and waste management in brewing industries. **Journal of Cleaner Production**, v. 14, n. 5, p. 463-471, 2006.

- FSANZ. FOOD STANDARDS AUSTRALIA NEW ZEALAND. **Compendium of Microbiological Criteria for Food**. Wellington: FSANZ, 2016. 50 p. Disponível em: <www.foodstandards.gov.au>. Acesso em: 01 nov. 2017.
- GAJULA, Hyma et al. Precooked Bran-Enriched Wheat Flour Using Extrusion: Dietary Fiber Profile and Sensory Characteristics. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 4, 2008.
- GONZALEZ PEREYRA, M. L. et al. Mycobiota and mycotoxins in malted barley and brewer's spent grain from Argentinean breweries. **Letters in Applied Microbiology**, v. 53, n. 6, p. 649-655, 2011.
- GREINER, Ralf; KONIETZNY, Ursula. Phytase for food application. **Food Technology & Biotechnology**, v. 44, n. 2, 2006.
- GUERREIRO, L. Produtos Extrusados para Consumo Humano, Animal e Industrial. Rio de Janeiro. **Dossiê Técnico – Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas - SBRT**. 2007, 25 p
- GUTKOSKI, L. C.; EL-DASH, A. A. Effect of extrusion process variables on physical and chemical properties of extruded oat products. **Plant Foods for Human Nutrition (Formerly Qualitas Plantarum)**, v. 54, n. 4, p. 315-325, 1999.
- HEALTH PROTECTION AGENCY. **Guidelines for Assessing the Microbiological Safety of Ready-to-Eat Foods**. London: Health Protection Agency, November 2009
- HÍDVÉGI, Máté; LÁSZTITY, Radomir. Phytic acid content of cereals and legumes and interaction with proteins. **Periodica Polytechnica: Chemical Engineering**, v. 46, n. 1-2, p. 59, 2002.
- HSU, H. W. et al. A multienzyme technique for estimating protein digestibility. **Journal of Food Science**, v. 42, n. 5, p. 1269-1273, 1977.
- HUIGE, N. J. Brewery by-products and effluents. In: PRIEST, FERGUS G. and STEWART, GRAHAM G. **Handbook of Brewing**. Florida: Taylor & Francis Group LLC. 2006. p. 655-713.
- IBOPE. Cerveja é a bebida preferida do brasileiro para comemorações. 2013. Disponível em: <<http://www.ibope.com.br/pt-br/noticias/Paginas/Cerveja-e-a-bebida-preferida-do-brasileiro-para-comemoracoes.aspx>>. Acesso em: 10/2015
- JULIANO, Bienvenido O. **Rice in human nutrition**. Int. Rice Res. Inst., 1993.
- KAUR, Parvinder; SATYANARAYANA, T. Yeast acid phosphatases and phytases: production, characterization and commercial prospects. In: **Yeast biotechnology: diversity and applications**. Springer Netherlands, 2009. p. 693-714.

- KAUR, V. I.; SAXENA, P. K. Incorporation of brewery waste in supplementary feed and its impact on growth in some carps. **Bioresource Technology**, v. 91, n. 1, p. 101-104, 2004.
- KILLEIT, Ulrich. Vitamin retention in extrusion cooking. **Food Chemistry**, v. 49, n. 2, p. 149-155, 1994.
- KIRIN HOLDINGS, Global Beer Production by Country in 2011. Institute of Food and Lifestyle Report Vol. 36, August 8, 2012. Disponível em: Acesso em: 04/2016.
- KIRJORANTA, Satu; TENKANEN, Maija; JOUPPIA, Kirsi. Effects of process parameters on the properties of barley containing snacks enriched with brewer's spent grain. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 775-783, 2016
- KONG, Suhyun; LEE, Junsoo. Antioxidants in milling fractions of black rice cultivars. **Food Chemistry**, v. 120, n. 1, p. 278-281, 2010.
- KONIETZNY, U.; GREINER, R.. PHYTIC ACID | Nutritional Impact. **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**, [s.l.], p.4555-4563, 2003. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b0-12-227055-x/00923-8>.
- KOTLAR, Catalina E.; BELAGARDI, Mariela; ROURA, Sara I. Brewer's spent grain: characterization and standardization procedure for the enzymatic hydrolysis by *Bacillus cereus* strain. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 58, n. 6, p. 464-475, 2011.
- KTENIOUDAKI, Anastasia; O'SHEA, Norah; GALLAGHER, Eimear. Rheological properties of wheat dough supplemented with functional by-products of food processing: Brewer's spent grain and apple pomace. **Journal of Food Engineering**, v. 116, n. 2, p. 362-368, 2013.
- KUNZE, W. Tecnología para cerveceros y malteros primera edición en español. Berlín: VLB, 2006.
- LEHRFELD, Jacob. HPLC separation and quantitation of phytic acid and some inositol phosphates in foods: problems and solutions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 12, p. 2726-2731, 1994.
- MAKOWSKA, Agnieszka; MILDNER-SZKUDLARZ, Sylwia; OBUCHOWSKI, Wiktor. Effect of brewer's spent grain addition on properties of corn extrudates with an increased dietary fibre content. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 63, n. 1, p. 19-23, 2013., v. 63, n. 1, p. 19-23, 2013.
- MARTINOVIC, Sanja et al. Preparation of filter aids based on diatomites. **International Journal of Mineral Processing**, [s.l.], v. 80, n. 2-4, p.255-260, set. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.minpro.2006.05.006>. MENG, X. et al. Effects of extrusion

conditions on system parameters and physical properties of a chickpea flour-based snack. **Food Research International**, v. 43, n. 2, p. 650-658, 2010.

MERCIER, C.; LINKO, P.; HARPER, J. M. **Extrusion Cooking**. St. Paul: AACC International PRESS, 1989. 471 p.

MINOLTA (1993) **Precise color communication: color control from feeling to instrumentation**. Osaka: Minolta Camera Co. Ltd., 49p.

MUSSATTO, S. I.; DRAGONE, G.; ROBERTO, I. C. Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications. **Journal of Cereal Science**, v. 43, n. 1, p. 1-14, 2006.

NASCIMENTO, Talita A.; CALADO, Verônica; CARVALHO, Carlos WP. Effect of Brewer's spent grain and temperature on physical properties of expanded extrudates from rice. **LWT-Food Science and Technology**, v. 79, p. 145-151, 2017.

OATWAY, Lori; VASANTHAN, Thava; HELM, James H. Phytic acid. **Food Reviews International**, v. 17, n. 4, p. 419-431, 2001.

OLIVEIRA, Ludmilla C. et al. Physical Characteristics, Nutritional Quality, and Antioxidant Potential of Extrudates Produced with Polished Rice and Whole Red Bean Flours. **Cereal Chemistry Journal**, [s.l.], v. 94, n. 1, p.74-81, jan. 2017. Scientific Societies.

OLIVEIRA, Ludmilla C.; ROSELL, Cristina M.; STEEL, Caroline J.. Effect of the addition of whole-grain wheat flour and of extrusion process parameters on dietary fibre content, starch transformation and mechanical properties of a ready-to-eat breakfast cereal. **International Journal of Food Science & Technology**, [s.l.], v. 50, n. 6, p.1504-1514, 9 mar. 2015. Wiley-Blackwell. .

OLUWOLE, O. B. et al. Assessment of Microbial Changes and Nutritional Qualities of Extruded White Yam (*Dioscorea rotundata*) and Bambara Groundnut (*Vigna subterranean*) Blends. **Food and Nutrition Sciences**, [s.l.], v. 04, n. 01, p.100-107, 2013. Scientific Research Publishing, Inc. <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2013.41014>.

PERES, José Roberto. **Ensilagem do resíduo de cervejaria úmido**. 2001. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/nutricao/ensilagem-do-residuo-de-cervejaria-umido-15861n.aspx>>. Acesso em: 10/2016.

PRIEST, Fergus G.; STEWART, Graham G. **Handbook of Brewing**. 2. ed. Estados Unidos: Taylor & Francis Group, 2006.

REBELLATO, Ana Paula et al. Effect of different iron compounds on rheological and technological parameters as well as bioaccessibility of minerals in whole wheat bread. **Food Research International**, v. 94, p. 65-71, 2017.

REPRO - Reducing Food Processing Waste. Repro Final Science Report – FOOD-CT-2005-006922 REPRO. Project coordinator: Professor Keith Waldron. Project Coordinator organisation: **Institute of Food Research**. European Commission: 2008. Disponível em: <http://cordis.europa.eu/docs/publications/1266/126625891-6_en.pdf>. Acesso em 03/2016

ROBERTSON, James A. et al. Effect of storage conditions on the microbial ecology and biochemical stability of cell wall components in brewers' spent grain. **Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 12, p. 7266-7272, 2010a.

ROBERTSON, James A. et al. Profiling brewers' spent grain for composition and microbial ecology at the site of production. **LWT-Food Science and Technology**, v. 43, n. 6, p. 890-896, 2010b.

ROBIN, Frédéric et al. Starch transformation in bran-enriched extruded wheat flour. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, n. 1, p. 65-74, 2011.

ROBIN, Frédéric; SCHUCHMANN, Heike P.; PALZER, Stefan. Dietary fiber in extruded cereals: Limitations and opportunities. **Trends in Food Science & Technology**, v. 28, n. 1, p. 23-32, 2012.

ROSELL, C. M.; SANTOS, E.; COLLAR, C. Physico-chemical properties of commercial fibres from different sources: A comparative approach. **Food Research International**, v. 42, n. 1, p. 176-184, 2009.

SALMAN, A.K.D.; OSMARI, E. K.; SANTOS, M. G. R. **Manual prático para formulação de ração para vacas leiteiras**. Porto Velho, RO: Embrapa Rondônia, 2011. 24 p. (Documentos / Embrapa Rondônia, ISSN 0103-9865, 145). Disponível em: <http://www.cpafrro.embrapa.br/media/arquivos/publicacoes/doc145_vacastleiteiras_1.pdf>. Acesso em: 20 out. 2017.

SANDBERG, A.-S.; AHDERINNE, Raija. HPLC Method for Determination of inositol Tri-, Tetra-, Penta-, and Hexaphosphates in Foods and Intestinal Contents. **Journal of Food Science**, v. 51, n. 3, p. 547-550, 1986.

SANTOS, M. et al. Variability of brewer's spent grain within a brewery. **Food Chemistry**, v. 80, n. 1, p. 17-21, 2003.

SANTOS, M. S. Cervejas e refrigerantes. São Paulo: CETESB, 2005. 58 p. (Série P + L)

SANTUCCI, Marjorie Carelli Costa et al. Efeito do enriquecimento de biscoitos tipo água e sal, com extrato de levedura (*Saccharomyces sp.*) Effect of enrichment of water and salt biscuits with yeast (*Saccharomyces sp.*) extract. **Food Science and Technology**, v. 23, n. 3, p. 441-446, 2003a.

SANTUCCI, Marjorie Carelli Costa et al. Enriquecimento de macarrão tipo tubo (massa curta) com derivados de levedura (*Saccharomyces sp.*) &58; impacto nutricional e sensorial Enrichment of noodles (short tube) with yeast (*Saccharomyces sp.*) derivatives&58; nutritional and sensorial impact. **Food Science and Technology**, v. 23, n. 2, p. 290-295, 2003b.

SARTORIUS STEDIUM DATA ANALYTICS. **User Guide to MODDE** – version 12. Umeå, Suécia, 2017.

SCHMIELE, Marcio. **Caracterização das frações com diferentes granulometrias de milho dentado e duro e avaliação na qualidade de extrusados expandidos**. 2009. 259 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Tecnologia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

SHARMA, Paras; GUJRAL, Hardeep Singh. Extrusion of hulled barley affecting β -glucan and properties of extrudates. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 6, p. 1374-1389, 2013.

SICUBE. Produção mensal de bebidas. 2015. Disponível em: <http://gerencialpublico.cmb.gov.br/PROD_BEBIDAS_MENSAL.html>. Acesso em 10/2015
SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N.; TANIWAKI, M. H. SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 4 ed. São Paulo: Varela, 2010a.

SILVA, Veridiana Basoni et al. Resíduo úmido de cervejaria na alimentação de cabras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 7, p. 1595-1599, 2010b.

SOBUKOLA, O.P.; BABAJIDE, J.M.; OGUNSADE, O. Effect of brewers spent grain addition and extrusion parameters on some properties of extruded yam starch-based pasta. **Journal of Food Processing and Preservation**, [s.l.], v. 37, n. 5, p.734-743, 25 abr. WileyBlackwell, 2013. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4549.2012.00711.x>.

STATISTA – Beer Industry – Statistics & Facts. Disponível em: <<http://www.statista.com/topics/1654/beer-production-and-distribution/>>. Acesso em: 05/2016

- STEEL, Caroline Joy et al. **Thermoplastic extrusion in food processing**. INTECH Open Access Publisher, 2012.
- STOJCESKA, Valentina et al. The effect of extrusion cooking using different water feed rates on the quality of ready-to-eat snacks made from food by-products. **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 226-232, 2009.
- STOJCESKA, Valentina et al. The recycling of brewer's processing by-product into ready-to-eat snacks using extrusion technology. **Journal of Cereal Science**, v. 47, n. 3, p. 469-479, 2008.
- TEBA, C. da S.; ASCHERI, José Luis Ramirez; CARVALHO, C. W. P. Efeito dos parâmetros de extrusão sobre as propriedades de pasta de massas alimentícias pré-cozidas de arroz e feijão. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 20, n. 3, p. 411-426, 2010.
- TEWARI, Anita; ABDULLAH, Swaid. Bacillus cereus food poisoning: international and Indian perspective. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 5, p. 2500-2511, 2015.
- UNEP/ IE- UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME/ INDUSTRY AND ENVIRONMENT, Environmental management in the brewing industry, UNEP Technical Report Series n°33, UNEP, Paris, 1996.
- VASANTHAN, Thava et al. Dietary fiber profile of barley flour as affected by extrusion cooking. **Food Chemistry**, v. 77, n. 1, p. 35-40, 2002.
- WEN, Ya et al. Structural characteristics and functional properties of rice bran dietary fiber modified by enzymatic and enzyme-micronization treatments. **LWT-Food Science and Technology**, v. 75, p. 344-351, 2017.
- WESTENDORF, Michael L.; WOHLT, James E. Brewing by-products: Their use as animal feeds. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 18, n. 2, p. 233-252, 2002.

APÊNDICE 1 – MATRIZ DE CORRELAÇÃO DELINEAMENTO A

	RUC	LEV	GRITS	LEV*LEV	RUC*GRI	LEV*GRI	IE	Uumido	Dureza	Densidade	proteína	Ublend	Vazão alimentação~
RUC	1	-0,5	-0,5	-0,488306	0,0436125	-0,854409	0,0755253	-0,559127	-0,393238	-0,0713874	-0,0177229	-0,524927	0,223679
LEV	-0,5	1	-0,5	0,976612	-0,872249	0,776736	-0,83078	0,968835	-0,168892	-0,697796	0,82525	0,983382	-0,909141
GRITZ	-0,5	-0,5	1	-0,488306	0,828636	0,0776735	0,755255	-0,409708	0,56213	0,769184	-0,807527	-0,458455	0,685462
LEV*LEV	-0,488306	0,976612	-0,488306	1	-0,855652	-0,42937	-0,790276	0,943187	-0,121735	-0,59895	0,84581	0,966008	-0,888639
RUC*GRI	0,0436125	-0,872249	0,828636	-0,855652	1	1	0,884399	-0,797535	0,516628	0,879292	-0,9594	-0,827303	0,917373
IE	0,0755253	-0,83078	0,755255	-0,790276	0,884399	-0,497172	1	-0,740547	0,453098	0,76804	-0,859927	-0,784426	0,876797
Uumido	-0,559127	0,968835	-0,409708	0,943187	-0,797535	0,776436	-0,740547	1	-0,0395986	-0,638225	0,709221	0,99308	-0,901975
Dureza	-0,393238	-0,168892	0,56213	-0,121735	0,516628	0,041157	0,453098	-0,0395986	1	0,663789	-0,48805	-0,0601866	0,329991
Densidade	-0,0713874	-0,697796	0,769184	-0,59895	0,879292	-0,37061	0,76804	-0,638225	0,663789	1	-0,773623	-0,636974	0,781884
Proteína	-0,0177229	0,82525	-0,807527	0,84581	-0,9594	0,355326	-0,859927	0,709221	-0,48805	-0,773623	1	0,757863	-0,847333
Ublend	-0,524927	0,983382	-0,458455	0,966008	-0,827303	0,762964	-0,784426	0,99308	-0,0601866	-0,636974	0,757863	1	-0,91779
Vazão alimentação~	0,223679	-0,909141	0,685462	-0,888639	0,917373	-0,556691	0,876797	-0,901975	0,329991	0,781884	-0,847333	-0,91779	1

Figura 25 - Matriz de correlação – Delineamento A

Onde células em verde representam correlação acima de 0,70 entre as respostas e outras respostas ou entre as respostas e os termos do modelo; células em vermelho correspondem a correlação acima de 0,70 entre os termos do modelo

APÊNDICE 2 – MATRIZ DE CORRELAÇÃO DELINEAMENTO B

	RUC	LEV	PDM	PDM*PDM	Proteína	Awúmido~	Useco	Uúmido	Ublends~
RUC	1	-0,342997	-0,764706	-0,724522	0,172473	0,761759	0,176802	0,751054	0,693593
LEV	-0,342997	1	-0,342997	-0,394301	0,624498	0,30594	0,723685	0,348772	0,416151
PDM	-0,764706	-0,342997	1	0,99501	-0,600875	-0,971632	-0,673246	-0,990309	-0,97907
PDM*PDM	-0,724522	-0,394301	0,99501	1	-0,583748	-0,979057	-0,731754	-0,977916	-0,974503
Proteína	0,172473	0,624498	-0,600875	-0,583748	1	0,427816	0,395228	0,607604	0,625551
Awúmido~	0,761759	0,30594	-0,971632	-0,979057	0,427816	1	0,697884	0,955098	0,940635
Useco	0,176802	0,723685	-0,673246	-0,731754	0,395228	0,697884	1	0,654131	0,732622
Uúmido	0,751054	0,348772	-0,990309	-0,977916	0,607604	0,955098	0,654131	1	0,989027
Ublends~	0,693593	0,416151	-0,97907	-0,974503	0,625551	0,940635	0,732622	0,989027	1

Figura 26 - Matriz de correlação – Delineamento B

Onde células em verde representam correlação acima de 0,70 entre as respostas e outras respostas ou entre as respostas e os termos do modelo; células em vermelho correspondem a correlação acima de 0,70 entre os termos do modelo