



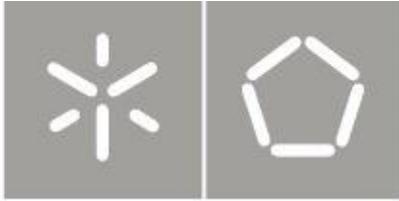
Universidade do Minho  
Escola de Engenharia

Tomás Augusto Nogueira Gama

**Valorização da dreche na produção de  
cerveja artesanal**

Tomás Augusto Nogueira Gama  
**Valorização da dreche na produção de cerveja  
artesanal**





Universidade do Minho  
Escola de Engenharia

Tomás Augusto Nogueira Gama

## **Valorização da dreche na produção de cerveja artesanal**

Dissertação de Mestrado  
Mestrado em Engenharia Química e Biológica

Trabalho efetuado sob orientação do  
**Professor José Maria Marques Oliveira**  
e do  
**Dr. Hugo André Carvalho Ribeiro**

## Direitos de autor e condições de utilização do trabalho por terceiros

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos. Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.

Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.

### Licença concedida aos utilizadores deste trabalho



Atribuição-NãoComercial  
CC BY-NC

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

## Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço à Portuguese Craft Beer pela oportunidade de estágio curricular concedida. Em especial ao meu supervisor Hugo, e também ao Tiago, com quem interagi durante os seis meses de estágio, e que se mostraram sempre disponíveis para me ajudar e ensinar, para além da amizade e integração.

Em segundo lugar, agradeço à Universidade do Minho por me ter proporcionado este estágio curricular que me fez crescer tanto profissionalmente, como pessoalmente. Ao Prof. José Maria Marques Oliveira agradeço todo o tempo que dedicou a esclarecer as minhas dúvidas e por todos os conselhos que deu para que eu pudesse realizar o melhor trabalho possível.

Por último, mas não menos importante, devo um especial agradecimento à minha família, por todo o apoio que me deram ao longo dos anos. Aos meus amigos, o melhor que levo da minha passagem pela Universidade, agradeço por todos os momentos e memórias dos últimos 5 anos. Agradeço, finalmente, à Maria, por me ajudar todos os dias, a ser a melhor versão de mim.

## Declaração de integridade

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração.

Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

# Valorização da dreche na produção de cerveja artesanal

## Resumo

Este trabalho tem como base uma pesquisa bibliográfica acerca das possibilidades da valorização da dreche cervejeira para, depois, abordar um caso-estudo sobre a sua valorização e concomitante produção de *Pleurotus ostreatus*.

Cerca de 85 % dos resíduos sólidos gerados no processo de fabrico da cerveja têm origem na fase de brassagem, e subsequente filtração, sendo constituídos principalmente por cascas de grãos de malte residuais, chamados de dreche. A dreche resultante da produção da cerveja é normalmente destinada à alimentação animal devido ao seu elevado teor proteico. No entanto, esta alternativa é considerada de baixo valor acrescentado. A dreche é um resíduo fibroso composto principalmente por celulose, hemicelulose e lignina. É rica em proteínas, açúcares fermentescíveis e compostos bioativos. Estas características tornam a dreche numa excelente matéria-prima para a obtenção de diferentes produtos com alto valor acrescentado.

As características da dreche, possibilitam a sua valorização em diversas áreas, entre as quais estão incluídas: a produção de biogás, a utilização na alimentação e aditivos, a utilização como adsorvente, o uso para remediação de solos, a produção de *biochar*, a incorporação em materiais compósitos, a utilização em biorrefinarias e a utilização como aditivo na produção de cerveja. No entanto, após extensa pesquisa bibliográfica, o método aprofundado neste trabalho foi a fermentação em substrato sólido.

A constituição da dreche torna esta atrativa para ser utilizada como substrato em fermentação em substrato sólido, um procedimento passível de ser iniciado por vários fungos. Estes organismos são conhecidos pela sua capacidade de degradação de vários materiais lignocelulósicos e de posterior transformação em novos materiais úteis. *Pleurotus ostreatus* foi o fungo estudado para a realização da fermentação em substrato sólido devido ao facto de também ser possível produzir cogumelos edíveis.

Após o estudo realizado, foi possível verificar que é possível realizar fermentação em substrato sólido na dreche para a obtenção de uma dreche com propriedades melhoradas ao nível da proteína, fibras e  $\beta$ -glucanos, ao mesmo tempo que se produzem cogumelos, com superior conteúdo em proteína. No entanto, deverá ser realizado um trabalho experimental para aferir a viabilidade do processo, pois o modo de produção da cerveja, as características das matérias-primas e os substratos adicionais, influenciam a fermentação.

**Palavras-chave:** dreche, valorização, fermentação em substrato sólido, *Pleurotus ostreatus*

# Valorisation of brewer's spent grain in the production of craft beer

## Abstract

This work is based on a bibliographical research about the possibilities of valorization of brewer's spent grain, in order to address a case-study about its valorization and concomitant production of *Pleurotus ostreatus*.

About 85% of the solid waste generated in the brewing process originates from the mashing and subsequent filtration phase, and is mainly composed of residual malt grains, called brewer's spent grain. The brewer's spent grain resulting from beer production is usually destined for animal feed because of its high protein content. However, this alternative is considered to be of low added value. Brewer's spent grain is a fibrous residue composed mainly of cellulose, hemicellulose and lignin. It is rich in protein, fermentable sugars and bioactive compounds. These characteristics make drecche an excellent raw material for obtaining different products with high added value.

The characteristics of drecche, allow its valorization in several areas, among which are included: the production of biogas, the use in food and additives, the use as adsorbent, the use for soil remediation, the production of biochar, the incorporation in composite materials, the use in biorefineries and the use as an additive in beer production. However, after extensive literature search, the method analyzed in-depth was solid state fermentation.

The constitution of drecche makes it attractive to be used as a substrate in solid state fermentation, a procedure that can be initiated by various fungi. These organisms are known for their ability to degrade various lignocellulosic materials and further transform them into useful new materials. *Pleurotus ostreatus* was the fungus studied to perform the fermentation on solid substrate due to the fact that it also produces edible mushrooms.

After the study performed, it was possible to verify that it is indeed possible to perform solid substrate fermentation on brewer's spent grain to obtain a brewer's spent grain with improved properties at the level of protein, fiber and  $\beta$ -glucans, while, at the same time, produce mushrooms, with higher protein content. However, experimental work should be conducted to assess the feasibility of the process, as the way of brewing, characteristics of the raw materials and additional substrates influence the fermentation.

**Keywords:** brewer's spent grain, valorisation, solid state fermentation, *Pleurotus ostreatus*

# Índice

Índice de tabelas .....	viii
Índice de figuras.....	viii
Lista de abreviaturas, acrónimos e siglas .....	x
Capítulo 1. Enquadramento .....	1
1.1. Motivações e Objetivos .....	1
1.2. A empresa: Portuguese Craft Beer.....	1
1.3. Estrutura da dissertação.....	2
Capítulo 2. Introdução .....	4
2.1. Cerveja .....	4
2.1.1. Água.....	4
2.1.2. Malte .....	5
2.1.3. Lúpulo .....	5
2.1.4. Levedura .....	6
2.2. Cerveja Artesanal .....	6
2.3. Processo de Produção de Cerveja.....	7
2.3.1. Maltagem .....	7
2.3.2. Moagem .....	8
2.3.3. Brassagem .....	8
2.3.4. Filtração .....	9
2.3.5. Fervura .....	9
2.3.6. Clarificação.....	9
2.3.7. Arrefecimento .....	10
2.3.8. Arejamento .....	10
2.3.9. Fermentação .....	10
2.3.10. Maturação .....	10
2.3.11. Clarificação.....	11
2.3.12. Engarrafamento .....	11
2.3.13. Pasteurização .....	11
2.3.14. Rotulagem .....	12
2.4. Dreche.....	12
2.4.1. Caracterização Química .....	13
2.4.2. Deterioração e Preservação.....	16
Capítulo 3. Alternativas para a valorização da dreche .....	18

3.1. Produção de biogás.....	18
3.2. Alimentação e aditivos.....	20
3.3. Utilização como adsorvente.....	22
3.4. Remediação de solos.....	23
3.5. Produção de <i>biochar</i> .....	24
3.6. Incorporação em materiais compósitos.....	25
3.7. Utilização em biorrefinarias.....	26
3.8. Aditivo na produção de cerveja.....	27
Capítulo 4. Caso de estudo: O reaproveitamento da dreche produzida na empresa Portuguese Craft Beer, utilizando <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	29
4.1. Fermentação em substrato sólido.....	30
4.4. Produção de <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	33
Capítulo 5. Considerações finais.....	36
Referências bibliográficas.....	38

## Índice de tabelas

Tabela 1 – Composição química da dreche, de acordo com vários estudos .....	14
Tabela 2 – Sumário de rendimentos em biogás obtidos ( $R$ ) a partir de digestão anaeróbia sob diferentes condições operacionais: pré-tratamento, inóculo, temperatura ( $T$ ) e configuração do reator .....	19
Tabela 3 – Utilização recomendada de dreche na confecção de determinados géneros alimentícios ....	21
Tabela 4 – Eficiência ( $E$ ) e capacidade de adsorção da dreche ( $Q_a$ ) para remoção de corantes e iões metálicos .....	23
Tabela 5 – Poder calorífico ( $PC$ ) de biochar produzido a partir de diferentes matérias-primas.....	25

## Índice de figuras

Figura 1 - Exemplo de cervejas comercializadas pela empresa Portuguese Craft Beer. ....	2
Figura 2 - Diagrama ilustrativo da etapa de formação da dreche cervejeira. ....	12
Figura 3 - Cogumelos <i>Pleurotus ostreatus</i> . ....	33

## Lista de abreviaturas, acrónimos e siglas

### Variáveis

$R$  – Rendimento em biogás

$T$  – Temperatura

$Q_a$  – Capacidade de adsorção

$E$  – Eficiência

$PC$  – Poder calorífico

$CQO$  – Carência química de oxigénio

### Siglas e Abreviaturas

**ACP** – Associação Cervejeiros de Portugal

**ACMA** – American Composites Manufacturers Association

**AX** – Arabinoxilano

**BA** – Brewers Association

**CE** – Comissão Europeia

**FAO** - Food and Agriculture Organization of the United Nations

**FSS** – Fermentação em substrato sólido

**MiP** – peroxidase independente de manganês

**MnP** – peroxidase dependente de manganês

### Expressões do Latim

*et. al.* – *et alii* (e outros)

# Capítulo 1. Enquadramento

O Capítulo 1 pretende introduzir o tema da presente dissertação através da definição dos seus objetivos, da apresentação da empresa onde foi realizado o estágio curricular e da forma como está estruturada a dissertação.

## 1.1. Motivações e Objetivos

A dreche é um subproduto da indústria cervejeira de alto volume e baixo custo, facilmente disponível, e um recurso de exploração industrial potencialmente valioso. O trabalho realizado na empresa Portuguese Craft Beer teve como objetivo encontrar uma forma de reaproveitamento da dreche, passível de ser implementada na empresa e que fosse ao mesmo tempo rentável do ponto de vista económico. Assim, ao longo do desenvolvimento deste trabalho foi estudada a dreche e as suas características, de modo a escolher a melhor solução para o problema existente.

## 1.2. A empresa: Portuguese Craft Beer

Em Portugal, o mercado da cerveja artesanal tem vindo a crescer, existindo, atualmente, mais de 100 marcas (ACP, 2021). Neste grupo estão inseridas a cerveja Alma e Amphora, produzidas pela Portuguese Craft Beer, empresa industrial, sediada em Braga, que se dedica à produção e comercialização de duas marcas próprias de cerveja artesanal (Figura 1).

A marca Alma, possui diferentes estilos de cerveja, sendo que a cada tipo está associada uma região portuguesa e sabores típicos da mesma (ACP, 2021). Alma Lisboaeta, Minhota, Vicentina, Algarvia, Aveirense, Transmontana, Açoreana, Alentejana e ainda a Alma D'Ouro, compõem o leque de cervejas produzida por esta marca que surge em Braga no ano de 2013, com a ideia de criar uma cerveja que representasse a “portugalidade”, incluindo nas garrafas uma amostra da diversidade e do melhor que Portugal tem para oferecer. A cada região portuguesa, além de lhe dar o nome, a empresa faz corresponder um estilo de cerveja, utilizando como base ingredientes e sabores típicos de cada região. Por exemplo, no Alentejo o trigo, o poejo e as sementes de coentro, no Algarve a alfarroba e o figo seco, em Lisboa a pimenta e a canela e em Trás-Os-Montes a castanha (PCB, 2021). O objetivo da marca Alma é “a produção de boas cervejas artesanais com um toque de sabor português, conseguindo desenhar Portugal em vários estilos de cerveja” (PCB, 2022).

A cerveja Amphora, tem o seu início, tal como vários outros projetos da mesma área, sob a forma de um *hobby*, a partir de casa dos fundadores da marca, com uma capacidade de apenas 50 L por lote. A experiência, bem como o primeiro contacto com o público foi tão bem recebida que rapidamente se iniciou a sua expansão, nascendo assim a cerveja Amphora. O vocábulo “*amphora*” – latim para ânfora, vasos antigos cuja origem remonta pelo menos ao Neolítico (Funari, 1985) – serviu na perfeição para a ligação entre a história da própria bebida e a história da cidade de Braga, a *Bracara Augusta* do império romano. Este imaginário prolongou-se nas designações das várias cervejas produzidas: Bracara (Cream Ale), Imperator (Quadrupel), Arena (Vienna Lager), Elysivm (Honey Ale), Gladiator (American IPA) e Centvrivm (Imperial Stout) (PCB, 2021).



Figura 1 - Exemplo de cervejas comercializadas pela empresa Portuguesa Craft Beer (PCB, 2022).

### 1.3. Estrutura da dissertação

A presente dissertação encontra-se subdividida em cinco capítulos principais. Após um pequeno enquadramento dos objetivos da dissertação e da empresa onde foi realizado o estágio curricular, neste capítulo, é apresentado o contexto teórico subjacente à produção de cerveja, desde a composição desta, passando pela definição de cerveja artesanal e pelo processo de produção, até à composição da dreche e sua preservação (Capítulo 2).

No Capítulo 3 são apresentadas diferentes alternativas para o aproveitamento da dreche cervejeira, que incluem a produção de biogás, a utilização na alimentação e aditivos, a utilização como adsorvente, o uso para remediação de solos, a produção de *biochar*, a incorporação em materiais compósitos, a utilização em biorrefinarias e a utilização como aditivo na produção de cerveja.

No Capítulo 4, tendo em conta a impossibilidade de ter sido realizado um estudo laboratorial, é apresentado um caso de estudo baseado em literatura disponível, acerca da possibilidade de se obter,

após uma fermentação em substrato sólido utilizando *Pleurotus ostreatus*, dreche com propriedades nutritivas melhoradas, ao mesmo tempo que se produz cogumelos edíveis, que possam ser utilizados pela empresa Portuguese Craft Beer para obter rendimento económico.

Finalmente, no Capítulo 5 são apresentadas as considerações finais, de acordo com o trabalho desenvolvido, bem como recomendações futuras de trabalhos necessários para averiguar a viabilidade do processo.

## Capítulo 2. Introdução

Este capítulo apresenta uma introdução teórica à cerveja e ao seu processo de produção, processo este que tem como subproduto a drecche. Este subproduto, no qual se baseia a presente dissertação, é igualmente aprofundado neste capítulo, desde a sua composição química, até à sua deterioração e preservação.

### 2.1. Cerveja

De acordo com a Portaria n.º 1/96, de 3 de Janeiro, “entende-se por cerveja a bebida obtida por fermentação alcoólica, mediante leveduras selecionadas do género *Saccharomyces*, de um mosto preparado a partir de malte de cereais, principalmente cevada, e outras matérias-primas amiláceas ou açucaradas, ao qual foram adicionadas flores de lúpulo ou seus derivados e água potável.”.

A cerveja é a bebida alcoólica mais popular no mundo. Por detrás de cada copo de cerveja há uma enorme quantidade de trabalho investido. A maior parte do trabalho envolvido na produção de cerveja é realizado por leveduras e as suas enzimas. Estas são responsáveis por catalisar a vasta maioria das reações bioquímicas que ocorrem em todas as etapas que gradualmente transformam a cevada, ou outras matérias-primas, em cerveja (Pires & Brányik, 2015).

Caracterizadas por serem produzidas em menor escala, as cervejeiras artesanais apostam na inovação, produção, desenvolvimento e reinvenção das cervejas, de variados estilos, que resultam em diferenças ao nível dos atributos sensoriais.

A produção de cerveja implica o uso de quatro matérias-primas essenciais, água, malte, lúpulo e levedura. O conhecimento das propriedades intrínsecas destes componentes é um fator decisivo para garantir a qualidade de uma cerveja e assegurar uma manipulação e processamento corretos. Alguns países são menos restritivos, podendo ser encontrados casos onde bebidas às quais se dá o nome de cerveja, não atenderem a uma ou mais das características definidas anteriormente (Kunze, 2004).

#### 2.1.1. Água

Quantitativamente, a água é a principal matéria-prima usada na produção de cerveja. O fornecimento e preparação da água é particularmente importante para o produtor, pois a qualidade da água tem influência direta na qualidade da cerveja produzida. Os iões presentes na água impactam o sabor da

cerveja e contribuem para a nutrição das leveduras. Iões-chave, devem estar presentes na água em concentrações suficientes de modo a exercerem efeitos positivos na qualidade da cerveja (Kunze, 2004).

A água utilizada nem sempre cumpre os requisitos de qualidade. Esta deve ser continuamente examinada de acordo com certos parâmetros de forma a cumprir os requisitos. Em primeiro lugar a água deve cumprir os regulamentos acerca da qualidade da água potável, ou seja, cumprir todos os requisitos físico-químicos, microbiológicos, sensoriais e químicos requeridos. Para além destes, deve estar de acordo com uma série de especificações tecnológicas para a produção de cerveja, criadas para garantir uma influência positiva nesta produção (Kunze, 2004).

### 2.1.2. Malte

A cevada é a principal matéria-prima para a produção de cerveja. O seu uso está assente no facto da cevada possuir um alto conteúdo em amido e a sua casca exterior se manter ligada ao grão, mesmo após a debulha e conversão em malte. Consequentemente, é capaz de formar a camada de filtração do mosto, necessária em fases de produção seguintes. Antes de ser usada na fermentação, a cevada deve ser convertida em malte. O malte é responsável por fornecer o amido necessário para a produção de cerveja. Este amido é depois convertido em extrato fermentescível durante o processo produtivo (Kunze, 2004).

A cevada, pode ser classificada em dois tipos, cevada de Primavera, cujas sementes são semeadas em março e abril, e cevada de Inverno, que é semeada em setembro. Ambos os tipos podem ser divididos em várias variedades. Hidratos de carbono compõem a maior parte da sua composição química (70,0 % a 85,0 %). Proteínas (10,5 % a 11,5 %), matéria inorgânica (2,0 % a 4,0 %), gorduras (1,5 % a 2,0 %) e outras substâncias (1,0 % a 2,0 %) completam a sua constituição (Kunze, 2004).

### 2.1.3. Lúpulo

O lúpulo é uma planta (*Humulus lupulus* L.) que contém resinas amargas e óleos essenciais, que oferecem à cerveja o amargor e componentes aromáticos. No que diz respeito à produção de cerveja, lúpulos são os cones secos da planta fêmea do lúpulo. Após a sua colheita, os lúpulos são secos e processados de forma a evitar a redução do seu valor (Kunze, 2004).

A composição dos lúpulos é extremamente importante para a qualidade da cerveja produzida a partir destes. Em peso seco, o lúpulo é constituído por 18,5 % substâncias amargas, 0,5 % óleos essenciais, 3,5 % polifenóis, 20,0 % proteínas e 8,0 % minerais (Kunze, 2004). As resinas, ou substâncias amargas,

são a componente mais característica e valiosa do lúpulo. Para além de garantirem o amargor da cerveja, melhoram a estabilidade da espuma, e, devido às suas propriedades antissépticas, aumentam a estabilidade biológica da cerveja. Estas resinas são constituídas por  $\alpha$ -ácidos e  $\beta$ -ácidos (Kunze, 2004).

#### 2.1.4. Levedura

A escolha das espécies de levedura utilizadas na produção de cerveja é essencial para a obtenção de produtos com propriedades sensoriais distintas e agradáveis. Tipicamente, a levedura da cerveja pertence ao género *Saccharomyces*. As células deste género multiplicam-se por gemulação, e ao metabolizar o(s) substrato(s) produzem sempre etanol (Cruz, 2007).

As estripes mais comuns utilizadas na produção de cerveja são a *Saccharomyces pastorianus*, também conhecidas por leveduras de fermentação baixa, cerveja *lager*, e as *Saccharomyces cerevisiae*, chamadas de leveduras de fermentação alta, cerveja *ale* (Cruz, 2007).

As leveduras de fermentação alta, sobem, com a espuma formada, para o topo do fermentador. Estas são usualmente introduzidas a temperaturas de cerca de 16 °C, sendo a fermentação conduzida a temperaturas de 15 °C a 20 °C durante 2 a 3 dias. Nas cervejas *lager*, as leveduras assentam no fundo do fermentador. Estas são introduzidas a temperaturas mais baixas, 7 °C a 10 °C, sendo que a fermentação ocorre também a temperaturas baixas, 10 °C a 15 °C, conseqüentemente sendo mais lentas (Briggs *et al.*, 2004).

As leveduras a ser usadas na fermentação são, normalmente, selecionadas dependendo de: velocidade e extensão do crescimento, velocidade e extensão da fermentação, sabor e aromas pretendidos na cerveja final, capacidade das leveduras de fermentação alta subirem e das leveduras de fermentação baixa se depositarem (Briggs *et al.*, 2004).

## 2.2. Cerveja Artesanal

Ao contrário da cerveja tradicional, não existe uma definição precisa que descreva o que é uma cerveja artesanal. No entanto a Brewers Association (BA, 2022), organização norte-americana, define os cervejeiros artesanais como sendo independentes, tradicionais e produtores em pequena escala.

A perceção de qualidade pelos consumidores relativamente à cerveja artesanal é superior à da cerveja tradicional, sendo que, o segmento das cervejas artesanais se destaca da concorrência pela diferenciação dos seus produtos e serviços. Apostando também na inovação, produção, desenvolvimento e reinvenção

de cervejas, de variados estilos com diferenças ao nível dos atributos sensoriais, particularmente no que respeita ao sabor, a este nível, os cervejeiros artesanais tendem a produzir cervejas com mais aroma e sabor que as cervejas tradicionais (Carvalho, 2018).

## 2.3. Processo de Produção de Cerveja

A operação industrial de produção de cerveja apresenta inúmeras etapas que englobam a transformação da matéria-prima em malte, de malte em mosto, a fermentação do mosto e todos os processos intermediários que conduzem ao produto finalizado e pronto para o consumo.

### 2.3.1. Maltagem

O processo de transformação da matéria-prima em malte é conhecido por maltagem. Este processo engloba os seguintes processos:

Molha – os grãos de cevada são colocados em contacto com água por aproximadamente 2 dias de modo a conseguir um aumento da sua humidade (Bamforth, 2003).

Germinação – após a molha, os grãos são drenados e germinados numa atmosfera fresca e húmida, com uma mistura e viragem, a ser realizada ocasionalmente, de modo a prevenir que os grãos germinem juntos. Durante a germinação, enzimas, açúcares e outros materiais solúveis acumulam-se. O tecido morto do grão, o endosperma amiláceo, é parcialmente degradado, diminuindo a sua força física (Briggs *et al.*, 2004).

Secagem – Quando o caulículo do grão atinge um comprimento de aproximadamente 75 % do comprimento do próprio grão, a germinação é parada por secagem, com recurso a uma corrente de ar quente (Bamforth, 2003).

Estufagem – A estufagem fixa o seu gosto peculiar e a coloração do malte, de acordo com o tipo de cerveja pretendido. Maltes mais claros, são estufados usando temperaturas baixas, e, nestes casos, a sobrevivência de enzimas é considerável. Maltes mais escuros, são estufados a temperaturas superiores, sobrevivendo menos enzimas. Em casos extremos, maltes especiais mais escuros, são aquecidos num forno rotativo, resultando na ausência de enzimas ativas (Briggs *et al.*, 2004).

### 2.3.2. Moagem

A moagem é o processo no qual os grãos de malte e outros adjuntos sólidos, se utilizados, são submetidos a um tratamento no qual os materiais são quebrados e reduzidos a partículas menores, de modo a garantir a mais fácil obtenção do melhor rendimento do extrato, de acordo com o sistema de moagem escolhido (Boulton, 2013). O sistema de moagem e a sua extensão é escolhida de modo a produzir malte moído que se adequa ao tipo de sistemas de brassagem e de separação de mosto. Se for utilizada moagem seca, possivelmente combinada com adjuntos, o malte moído é coletado num recipiente próprio (Briggs *et al.*, 2004). Nenhum grão deve sobreviver intacto ao processo. Na maioria dos casos, o material da casca é utilizado para formar uma cama através da qual o mosto é filtrado, sendo por isso essencial que se proceda com cuidado nesta fase (Boulton, 2013).

### 2.3.3. Brassagem

A brassagem é a fase de produção do mosto na qual o grão resultante da moagem é misturado com a água, sendo o mosto resultante mantido, durante um período pré-determinado, a uma temperatura controlada (ou gama de temperaturas) (Boulton, 2013). Esta etapa, normalmente, é iniciada a temperaturas relativamente baixas (45 °C a 50 °C), de modo a possibilitar que enzimas mais sensíveis ao calor consigam atuar. Estas incluem enzimas tais como a  $\beta$ -glucanase, que são capazes de degradar qualquer polissacarídeo das paredes celulares do malte que tenham sobrevivido ao processo de maltagem, tornando o amido mais acessível. Nesta altura, são também ativadas as proteases, enzimas responsáveis por degradar proteínas, que irá resultar numa cerveja final mais limpa. Produzem-se ainda aminoácidos individuais e pequenos péptidos que são usados pelas leveduras no seu crescimento e proliferação celular (Bamforth, 2003).

Após cerca de 20 min, a temperatura é aumentada até, pelo menos, 65 °C, pois é a esta temperatura que ocorre a gelatinização do amido. Isto envolve a conversão do amido, inicialmente uma estrutura cristalina, de difícil digestão, num estado desorganizado, facilmente acessível para as amilases responsáveis pela decomposição do amido em açúcares fermentescíveis. A conversão do amido é realizada por duas enzimas diferentes. A  $\beta$ -amilase é responsável pela produção da maltose e tem uma temperatura ótima de atuação entre os 60 °C e os 63 °C. A  $\alpha$ -amilase, tem uma temperatura ótima de atuação entre os 68 °C e os 72 °C, e garante a produção de açúcares não fermentescíveis tais como as dextrinas (Bamforth, 2003).

O mosto é mantido durante um período de cerca de 1 h na gama de temperaturas anterior, até a temperatura ser novamente aumentada, até 76 °C. Esta subida final serve para parar a maior parte da atividade enzimática, bem como reduzir a viscosidade das partículas, melhorando a fluidez do mosto (Bamforth, 2003).

#### 2.3.4. Filtração

No final do processo de brassagem obtém-se um empastado, constituído por uma mistura aquosa de substâncias dissolvidas e não dissolvidas. O volume resultante da brassagem é bombeado através de, por exemplo, um filtro de placas e quadros (separados por telas de polipropileno) que separa a fração solúvel, mosto doce, da parte insolúvel, a dreche (Bamforth, 2003).

#### 2.3.5. Fervura

Os volumes obtidos da filtração são reunidos numa caldeira de ebulição. Nesta, durante cerca de 90 min, procede-se à fervura e concentração do mosto, deixando evaporar o excesso de água de acordo com o tipo de cerveja pretendido, à sua esterilização e a precipitação de proteínas de elevada massa molecular. Todas as enzimas ainda presentes, são destruídas nesta fase. É nesta fase que ocorre tradicionalmente a adição do lúpulo (Boulton, 2013). O lúpulo contém compostos importantes ao nível do sabor amargo e do aroma da cerveja, os  $\alpha$ -ácidos ou humulonas e os  $\beta$ -ácidos ou lupulona. Quando o mosto é fervido, os  $\alpha$ -ácidos são rearranjados, formando os iso- $\alpha$ -ácidos, num processo chamado isomerização. Os produtos resultantes da isomerização são mais solúveis que as humulonas e mais amargos, sendo responsáveis por dar esta característica à cerveja. No fim da fervura, qualquer  $\alpha$ -ácido não isomerizado é perdido com a remoção do lúpulo gasto, permanecendo apenas os iso- $\alpha$ -ácidos (Bamforth, 2003).

#### 2.3.6. Clarificação

Após a fervura, o mosto é transferido para um sistema que separa de forma eficaz o mosto límpido do coágulo formado, a *trub*, e de eventuais fragmentos de lúpulo em suspensão ou proteína. Em muitos casos, a operação realiza-se num simples decantador com um repouso de cerca de 20 min, ou num *whirlpool*, aparelho em que o mosto entra tangencialmente à parede lateral sendo que os sólidos se acumulam no fundo. Este método origina um cone de resíduos tão compacto que a sua eliminação apenas se consegue, após a total remoção do mosto limpo, com a ajuda de um forte jato de água de lavagem (Bamforth, 2003).

### 2.3.7. Arrefecimento

O mosto clarificado encontra-se a temperatura elevada, pelo que é necessário baixá-la para lhe ser inoculada a levedura. O arrefecimento faz-se, por exemplo, num permutador de placas (Bamforth, 2003).

### 2.3.8. Arejamento

O mosto já arrefecido, deve ser arejado de modo a ficar com uma concentração de  $O_2$  de 8 mg/L a 10 mg/L. Isto é conseguido, industrialmente, recorrendo a um forte arejamento com ar estéril (Bamforth, 2003).

### 2.3.9. Fermentação

A levedura, normalmente armazenada em tanque refrigerado e fechado, encontra-se normalmente numa forma pastosa podendo, assim, ser bombeada e introduzida no mosto com uma bomba doseadora, durante uma boa percentagem do tempo de enchimento do fermentador (Bamforth, 2003). Noutros casos, principalmente em cervejeiras artesanais poderá ser utilizada levedura seca ativa. Cada estirpe de levedura utilizada industrialmente para produzir os diversos tipos de cerveja é cuidadosamente selecionada e mantida com todas as suas características morfológicas de floculação e de produção de aroma/sabor (Bamforth, 2003).

A fermentação alcoólica é o processo biotecnológico no qual a levedura consome açúcares, provenientes de várias fontes e de diferentes tipos, e os converte em  $CO_2$  e em etanol, sobretudo. Uma fermentação bem sucedida dependerá de diferentes fatores como a temperatura, o tipo de levedura, quantidade de azoto assimilável e a presença de ar no fermentador (Bamforth, 2003). Esta transformação dos açúcares presentes no mosto, resulta em várias substâncias químicas que irão dar as diferentes características à cerveja, tais como o sabor e o aroma (Bamforth, 2003). Um mosto com mais açúcares fermentescíveis dará origem a uma cerveja com maior teor alcoólico e menos encorpada, enquanto um com menos resultará numa cerveja com menor teor alcoólico e maior corpo. Os açúcares presentes em maior expressão no malte são a maltose, a maltotriose, a glucose, a sacarose e a frutose.

### 2.3.10. Maturação

A fermentação secundária, ou maturação, é necessária e importante apesar de relativamente poucas alterações serem registadas nesta fase. Um dos compostos mais importantes a considerar durante a

maturação é o diacetilo, uma substância com um intenso sabor amanteigado produzido pela levedura durante a fermentação. No final da fermentação primária, a concentração de diacetilo é bastante superior ao seu limite de percepção. Na maturação, a concentração deste vai diminuir lentamente, sendo metabolizado, pela levedura, em 2,3-butanodiol, sendo inferior ao limiar de percepção no final desta etapa (Bamforth, 2003).

#### 2.3.11. Clarificação

A cerveja, antes de ser acondicionada e embalada, deve ser filtrada, de modo a ser possível que lhe seja retirada matéria em suspensão, possibilitando a observação do seu brilho característico, graças à eliminação de células de levedura e complexos proteicos ainda em suspensão (Bamforth, 2003). Vários diferentes tipos de filtros poderão ser utilizados, sendo o de placas o mais comum. Adicionalmente, a cerveja pode ser misturada utilizando auxiliares de filtração, por exemplo, *kieselguhr* ou perlite, partículas porosas que aprisionam partículas em suspensão e impedem que o sistema entupa (Bamforth, 2003).

#### 2.3.12. Engarrafamento

No engarrafamento, o enchimento das garrafas deve ser feito em condições que garantam todas as especificações regulatórias e de qualidade. O acondicionamento da cerveja pode ser realizado em garrafa individual, em lata, ou barril. Este enchimento pode ser realizado diretamente do fermentador ou, se for mais conveniente, a partir de uma cuba de enchimento. A velocidade deste processo depende da capacidade e tecnologia da enchedora, podendo esta ser automática ou, mais comum em cervejeiras artesanais, manual. Normalmente as garrafas utilizadas são de cor escura ou âmbar para diminuir a intensidade da luz, bem como o tipo de radiação que as atinge, podendo esta influenciar a qualidade sensorial da cerveja (Bamforth, 2003). Após o engarrafamento, as garrafas são colocadas em repouso até que atinjam a quantidade de gás pretendido.

#### 2.3.13. Pasteurização

A pasteurização é o nome dado ao processo no qual os alimentos, incluindo a cerveja, são tratados termicamente, a fim de reduzir as concentrações de microrganismos vivos, assegurando assim que a sua deterioração não ocorra dentro do prazo de validade pretendido para o produto (Boulton, 2013).

São utilizados na indústria cervejeira dois tipos de processos de pasteurização. A pasteurização *flash* é um tratamento térmico em linha aplicado a líquido em grande quantidade, no fabrico de cerveja

tipicamente destinadas a serem embaladas em barris. Assim sendo, esta etapa pode ser realizada antes ou depois do engarrafamento. A temperatura é aumentada até 72 °C durante um período de 30 s a 60 s (Bamforth, 2003).

A pasteurização em túnel, é um tratamento térmico aplicado aos produtos já embalados, geralmente cervejas engarrafadas ou enlatadas. Neste caso, as temperaturas utilizadas são de cerca de 60 °C, durante 10 min a 20 min (Bamforth, 2003).

#### 2.3.14. Rotulagem

Nesta etapa são colocados os rótulos na garrafa que devem identificar a marca da cerveja, empresa responsável, variedade e tipo de cerveja, título alcoométrico volúmico, entre outras informações relativas aos ingredientes do seu fabrico (Stewart & Priest, 2006). Este processo pode ser realizado manualmente, ou por máquinas automáticas.

### 2.4. Dreche

Com o crescimento do setor cervejeiro, a produção de resíduos também sofreu um aumento. Cerca de 85 % dos resíduos sólidos gerados no processo de fabrico da cerveja têm origem na fase de brassagem, e subsequente filtração (Figura 2), sendo constituídos principalmente por cascas de grãos de malte residuais, chamados de dreche.



Figura 2 - Diagrama ilustrativo da etapa de formação da dreche cervejeira (adaptado de Bianco et al., 2020).

No ano de 2021 a produção mundial de cerveja atingiu os  $1,86 \times 10^9$  hL, com a China, os Estados Unidos, e o Brasil a serem os principais países a contribuir para estes valores (Barth-Haas Group, 2021). Nigam (2017) estima que por cada 100 L de cerveja produzida, são gerados 20 kg de dreche. Assim, pode ser estimado que a produção mundial anual de dreche ultrapasse os 37,2 Mt.

O malte é a principal matéria usada na produção de cerveja. O grão de malte divide-se em três partes principais: o gérmen, o endosperma e o revestimento do grão. O revestimento é ainda subdividido no revestimento da semente, o pericarpo e a casca. Durante o processo, a parte amilácea do endosperma é sujeita a degradação enzimática, resultando na libertação de açúcares fermentescíveis (maltose e maltotriose) e não fermentescíveis (dextrinas), polipéptidos, aminoácidos e proteínas solúveis. Este meio resultante é o mosto, que será fermentado em cerveja por ação das leveduras. À parte insolúvel dos componentes do grão dá-se o nome de dreche (Mussatto *et al.*, 2006).

#### 2.4.1. Caracterização Química

A dreche possui, tipicamente, um teor de água de cerca de 70,0 % a 90,0 %, sendo essencialmente composta pelo conjunto casca-pericarpo-semente que constituem o grão de malte. Estes principais componentes da dreche são ricos em celulose, polissacarídeos não celulósicos, lignina, proteína e lípidos. A casca contém ainda quantidades consideráveis de sílica e grande parte dos compostos fenólicos presentes no malte (Mussatto *et al.*, 2006).

De acordo com as condições de maltagem e moagem, o período da colheita, o tipo de mosto, a qualidade e tipo de adjuntos adicionados durante o processo de produção da cerveja, a composição química da dreche pode variar (Mussatto *et al.*, 2006). Observando a Tabela 1, facilmente se deteta variações na composição química da dreche como consequência da variação dos diferentes fatores de fabrico.

Sendo, basicamente, um material lignocelulósico, os principais constituintes da dreche são fibras, hemicelulose e celulose, proteína e lignina (Lynch *et al.*, 2016). A fibra constitui cerca de metade da composição da dreche, em termos de peso seco, enquanto as proteínas podem constituir até 30 %. O alto conteúdo em proteína e fibra, torna a dreche uma matéria-prima altamente interessante ao nível de aplicações na área alimentar e até mesmo não alimentar. Durante a brassagem, a maior parte do amido presente no malte é removido, o que torna possível as concentrações elevadas de fibras e proteína (Mussatto *et al.*, 2006).

Tabela 1 – Composição química da dreche, de acordo com vários estudos (valores expressos em g por 100 g de matéria seca; nalguns casos é apresentado o desvio padrão)

Componente	Kanauchi <i>et al.</i> (2001)	Buller <i>et al.</i> (2022)	Cervantes-Ramirez <i>et al.</i> (2022)	Silva <i>et al.</i> (2004)	Mussatto & Roberto (2006)	Celus <i>et al.</i> (2006)	Xiros & Christakopoulos (2012)	Milew <i>et al.</i> (2022)	Meneses <i>et al.</i> (2013)
Hemicelulose	21,8	36 ± 1	26,4 ± 0,5	41,9	28,4	22,5	40	14,7	19,2
Celulose	25,4	18 ± 2	13,8 ± 0,1	25,3	16,8	0,3	12	18,5	21,7
Amido	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1	2,7	n.d.	n.d.
Proteína	24	21 ± 1	21,6 ± 0,5	n.d.	15,2	26,7	14,2	25,1	24,7
Lignina	11,9	20 ± 1	18,9 ± 0,2	16,9	27,8	n.d.	11,5	4,4	19,4
Lípidos	10,6	n.d.	11,9 ± 0,2	n.d.	n.d.	n.d.	13	8,2	n.d.
Cinzas	2,4	4,1 ± 0,2	4,6 ± 0,1	4,6	4,6	3,3	3,3	3,2	4,2

n.d., não determinado

A hemicelulose, primariamente constituída por arabinoxilano (AX), é o principal constituinte da dreche, podendo representar até 40 % do seu peso seco. É proposto que o AX é conectado às fibrilas celulósicas através de pontes de hidrogénio (Mandalari *et al.*, 2005). A estrutura principal de AX é composta por resíduos de xilose, podendo estes ser substituídos por resíduos de arabinose (Mendis & Simsek, 2014). Pontes duplas de ácido ferúlico são responsáveis por ligar diferentes cadeias de AX (Mandalari *et al.*, 2005). Coelho *et al.* (2016) referem que o AX presente na dreche contém maioritariamente resíduos de arabinose ligados através do grupo terminal, e que grupos substituintes adicionais podem estar presentes, tais como hexose, ácido urónico e ácido urónico metilado, e grupos acetilo.

A celulose é outro dos polissacarídeos abundantes na dreche. Baixos níveis de glucanos e amido também podem estar presentes na composição da dreche. Os monossacarídeos mais abundantes na dreche são a xilose, a glucose e a arabinose, sendo que vestígios de galactose e ramnose também foram reportados (Forssell *et al.*, 2008; Mandalari *et al.*, 2005).

Outro constituinte relevante da dreche é a lignina. Esta pode representar entre 10 % a 28 % do seu peso seco total. A lignina é uma macromolécula de estrutura complexa, responsável por manter a estrutura rígida e a integridade das paredes celulares (Mussatto, 2014; Mussatto & Teixeira, 2010). Reações de condensação, induzidas por radicais, conectam, através de uma rede ramificada, ácido *p*-cumárico, álcool coniferílico e ácido sinapílico, os três monómeros constituintes da lignina (Niemi *et al.*, 2013). Devido à presença de lignina, o dreche possui também vários compostos fenólicos, tais como ácido ferúlico, ácido siríngico, ácido vanílico e ácido *p*-hidroxibenzóico (Bachmann *et al.*, 2022; Mussatto *et al.*, 2006).

O conteúdo proteico da dreche também varia consideravelmente, estando presente a níveis médios de cerca de 21 % com base em peso seco (Tabela 1). As proteínas mais abundantes são a hordeína, a glutelina, a globulina e a albumina (Celus *et al.*, 2006). Os aminoácidos essenciais representam cerca de 30 % do conteúdo total de proteína, sendo a lisina a mais abundante (Waters *et al.*, 2012). A presença da lisina é de especial importância, devido à sua escassez em grande parte dos cereais (Blandino *et al.*, 2003).

Minerais e vitaminas, também são encontrados na dreche. Os elementos minerais incluem cobalto, cálcio, cobre, ferro, magnésio, manganês, fósforo, potássio, selénio, sódio e enxofre, todos em concentrações inferiores a 0,5 % (Mussatto *et al.*, 2006). As vitaminas incluem, biotina, colina, ácido fólico, niacina, ácido pantoténico, riboflavina, tiamina e piridoxina (Mussatto *et al.*, 2006).

## 2.4.2. Deterioração e Preservação

O alto conteúdo em água presente na dreche, causa dois grandes problemas. Primeiro, o alto conteúdo em polissacarídeos e proteína, em conjugação com o alto valor de humidade, torna a dreche altamente suscetível a contaminação e consequente deterioração, sendo esta uma área problemática que restringe a capacidade de exploração com sucesso deste resíduo. Em segundo lugar, o transporte de dreche molhada pode ser altamente dispendioso. Estas dois problemas são a principal razão pela qual a maior parte dos produtores de cerveja remete para agricultores locais a dreche, para ser usada como alimento para gado.

Sodhi e colaboradores (Sodhi *et al.*, 1985) identificaram, após 30 dias de armazenamento de dreche a temperatura ambiente, oito isolados de *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* e *Rhizopus*. Por outro lado, Robertson *et al.* (2010) mostrou que, durante a etapa de produção de cerveja, a dreche pode ser considerada microbiologicamente estável e dentro de limites aceitáveis para o uso como alimento. A proliferação de bactérias microaerófilas e anaeróbias indica que a microflora é suscetível a mudanças repentinas após a produção da dreche. Assim, este material deve ser estabilizado e armazenado sob condições apropriadas pós-produção, se a intenção for a sua utilização posterior.

Vários métodos foram examinados para testar a sua capacidade de preservação da dreche. Soluções com ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico, e ácido benzoico foram usadas para preservar dreche, tendo os dois últimos sido particularmente eficientes. No entanto, o uso de químicos pode chocar com o desejo dos consumidores por ingredientes alimentares mais naturais (Mussatto *et al.*, 2006).

Os métodos físicos de secagem são os mais utilizados na preservação da dreche. Várias cervejeiras possuem secções responsáveis por processar a dreche utilizando técnicas compostas por dois passos, onde, em primeiro lugar, se reduz o conteúdo em água até cerca de 60 %, prensando a dreche, seguindo-se uma secagem, onde se pretende atingir um conteúdo de humidade inferior a 10 % (Lynch *et al.*, 2016).

Congelamento, secagem em estufa e liofilização são os métodos mais comuns. Destes, o congelamento, é, normalmente, um método inapropriado a nível logístico pois provoca a necessidade de um grande espaço para que sejam armazenados os volumes elevados de dreche, devido ao facto de se congelar também a água presente. Secagem em estufa e liofilização, não apresentam este problema, pois removem a água presente, permitindo uma redução do volume de material (Santos *et al.*, 2003).

Bartolomé *et al.* (2002) avaliaram métodos de preservação da dreche, incluindo congelamento, secagem em estufa e liofilização. Enquanto, tanto a secagem em estufa como a liofilização, não levam a alterações composicionais, o congelamento, por outro lado, causa alterações no conteúdo de arabinose da dreche. A liofilização, no entanto, é uma hipótese economicamente inviável. Assim sendo, secagem em estufa é o método tradicional mais adequado para a preservação da dreche, sendo que deve ser realizado a temperaturas inferiores a 60 °C, isto porque temperaturas mais elevadas podem causar sabores desagradáveis. Além disso, pode também ocorrer a torra ou a queima dos grãos se a temperatura não for controlada adequadamente. A nível de gasto energético, a secagem em forno, é, ainda, altamente intensiva (Mussatto *et al.*, 2006).

Um método alternativo de secagem utilizado consiste no uso de vapor sobreaquecido. Este método apresenta algumas vantagens, tais como o facto de ser menos dispendioso a nível energético comparado com a secagem em estufa, eficiência de secagem melhorada e a capacidade superior de recuperação de compostos orgânicos valiosos (Mussatto *et al.*, 2006). A velocidade através da qual o vapor atravessa a amostra da dreche, assim como a temperatura, foram vistos como fatores importantes na sua secagem, visto que aumentado a velocidade do vapor de 0,3 m/s para 1,1 m/s, a uma temperatura de 145 °C, resulta numa diminuição de 57 % no tempo de secagem necessário para atingir o equilíbrio, sem efeitos relevantes nas propriedades nutricionais da dreche. Apenas a temperaturas altas (180 °C) foram verificadas alterações na gelatinização do amido (Tang *et al.*, 2005). No, entanto, o equipamento utilizado nestes testes com vapor sobreaquecido foi construído à medida, especificamente para este propósito, o que potencialmente limitará a adoção desta tecnologia.

El-Shafey *et al.* (2004), num estudo realizado à escala piloto, utilizaram filtros de membrana para alcançar níveis superiores de secagem da dreche. No processo, a dreche foi misturada com água e filtrada a uma pressão de 300 kPa a 500 kPa, lavada com água quente a 65 °C, filtrada por membrana, e, finalmente, seca a vácuo, para atingir níveis de humidade relativa entre os 20 % e os 30 %. Não foi detetada atividade microbiana após o armazenamento da dreche, passados 6 meses. Os níveis de secagem atingidos permitem que a dreche seja armazenada ao ar livre sem que ocorra atividade bacteriana, facilitando o seu uso como alimento animal, ou como material de partida para outros potenciais usos.

## Capítulo 3. Alternativas para a valorização da dreche

A dreche resultante da produção da cerveja é normalmente destinada à alimentação animal devido ao seu elevado teor proteico. No entanto, esta alternativa é considerada de baixo valor acrescentado (Bachmann *et al.*, 2022). Assim sendo, neste capítulo, são apresentadas algumas alternativas para a valorização da dreche em diferentes áreas.

### 3.1. Produção de biogás

Devido ao seu potencial energético, a dreche é um substrato atrativo para digestão anaeróbia. Digestão anaeróbia é a sequência de processos através do qual microrganismos decompõem material biodegradável na ausência de oxigénio. A produção de biogás através deste processo foi já alvo de vários estudos. A Tabela 2 expõe as diferentes condições operacionais, e rendimentos obtidos em alguns destes estudos. Esta tabela demonstra variações de rendimento específico de biogás (relativamente aos sólidos voláteis), medido em condições normais de pressão e temperatura, entre os  $0,064 \text{ m}^3 \text{ kg}^{-1}$  e os  $0,550 \text{ m}^3 \text{ kg}^{-1}$ . O rendimento é baseado na carência química de oxigénio (*CQO*) à entrada do reator, comparado com a saída. Este é afetado por fatores tais como a temperatura, a configuração do reator, tipo de pré-tratamento, conteúdo em lignina, celulose e hemicelulose (Bachmann *et al.*, 2022).

A celulose, hemicelulose e a lignina são compostos de difícil degradação anaeróbia. A estabilidade da celulose cristalina está associada à presença de fenol e de *p*-cresol. Estes compostos causam inibição da atividade microbiana, tornando a degradação mais difícil e consequentemente afetam a produção de biogás (Sežun *et al.*, 2011). Assim sendo, são frequentemente realizados pré-tratamentos da dreche, ou durante a produção de biogás, de modo a melhorar o seu rendimento (Bachmann *et al.*, 2022).

De acordo com Mussoline *et al.* (2013), o pré tratamento com ácidos é a melhor opção para substratos lignocelulósicos como a dreche pois estes tratamentos degradam a lignina, e microrganismos hidrolíticos são capazes de se ambientar a condições de acidez. Adicionalmente, em conjugação, a ação da temperatura causa quebras nas membranas das células dos substratos, facilitando o acesso dos microrganismos à matéria orgânica.

Tabela 2 – Sumário de rendimentos em biogás obtidos (R) a partir de digestão anaeróbia sob diferentes condições operacionais: pré-tratamento, inóculo, temperatura (T) e configuração do reator

Substrato	Pré-tratamento	Inóculo	T/°C	Configuração do Reator	R/(m <sup>3</sup> kg <sup>-1</sup> )	Referência
Dreche	Químico e termoquímico	Lama anaeróbia	37	Uma etapa	0,550	(a)
Dreche	Nenhum	Lama de Esgoto	37	Uma etapa	0,193	(b)
		Resíduos Orgânicos Urbanos			0,215	
		Resíduos Orgânicos Agrícolas			0,130	
Dreche e águas residuais anaeróbias de cervejeira	Termoquímico	Lama anaeróbia	37	Duas etapas	0,285	(c)
Dreche	Térmico	Lama	37	Uma etapa	0,467	(d)
Dreche e águas residuais anaeróbias de cervejeira	Termoquímico	Lama anaeróbia	38	Duas etapas	0,491	(e)
Dreche	Nenhum	Lama	35	Uma etapa	0,374	(f)
Dreche e abrunho gasto	Térmico	Lama anaeróbia	37	Uma etapa	0,103	(g)
			55		0,064	

(a) – Sežun *et al.*, 2011; (b) – Novak *et al.*, 2011; (c) – Panjičko *et al.*, 2015; (d) – Bochmann *et al.*, 2015; (e) – Panjičko *et al.*, 2017; (f) – Bougrier *et al.*, 2018; (g) – de Diego-Díaz *et al.*, 2018

De acordo com estudos realizados por Bochmann *et al.* (2015), até uma temperatura de 140 °C, verifica-se um efeito positivo na produção de biogás, enquanto um pré-tratamento a temperaturas superiores a essa, a quantidade de CH<sub>4</sub> diminui devido à acumulação de produtos não degradáveis ou inibitórios. Quando a temperatura aumentou de 120 °C para 140 °C, o valor de *R* aumentou também de 0,425 m<sup>3</sup> kg<sup>-1</sup> para 0,493 m<sup>3</sup> kg<sup>-1</sup>. No entanto, quando aumentado de 140 °C para 180 °C, o valor de *R* diminuiu para 0,327 m<sup>3</sup> kg<sup>-1</sup> (Bachmann *et al.*, 2022).

Outra estratégia para melhorar a degradação da dreche passa por realizar a digestão anaeróbia em duas etapas, em vez de uma só. A digestão anaeróbia de material orgânico é composta por pelo menos 4 etapas de processo: hidrólise, acidogénese, acetogénese e metanogénese. Durante a hidrólise, as moléculas complexas (hidratos de carbono, proteínas e lípidos) presentes na matéria orgânica são decompostas em moléculas mais simples (aminoácidos, açúcares e ácidos gordos) que são posteriormente convertidas principalmente em ácidos gordos voláteis, na acidogénese. Alguns destes são superiores tendo de ser convertidos em acetato na acetogénese. Finalmente, os intermediários são consumidos por microrganismos produtores de metano, libertando-o (Meegoda *et al.*, 2018). Para digerir com sucesso melhorado a dreche, a etapa de hidrólise, sendo a etapa limitante do processo, deve ser separada das outras etapas (Bachmann *et al.*, 2022).

A análise da Tabela 2 permite ainda constatar que grande parte dos estudos foram realizados num intervalo de temperaturas mesófilo (cerca de 37 °C). Em complemento, de Diego-Díaz *et al.* (2018) mostraram que ocorre uma redução de 0,103 m<sup>3</sup> kg<sup>-1</sup> para 0,064 m<sup>3</sup> kg<sup>-1</sup> quando a temperatura foi aumentada para 55 °C, causada por uma etapa hidrolítica mais lenta. Adicionalmente, o baixo rácio C:N (<5) tem impacto na libertação de amoníaco, libertação esta que é favorecida em condições termófilas, o que resulta numa geração menor de biogás sob este tipo de condições.

## 3.2. Alimentação e aditivos

O conteúdo em proteínas, fibra e aminoácidos faz da dreche, uma matéria de elevado potencial, tanto na alimentação animal como na humana. Apesar de a maior parte da dreche produzida na indústria cervejeira ser direcionada para a alimentação de gado, há também a possibilidade de ser utilizada para alimentar peixe e galináceos. Na indústria do peixe, a dreche contribui para a redução do custo da dieta de peixe entre 27 % a 33 % ao mesmo tempo que tende a cumprir, e até superar, os requerimentos nutricionais pretendidos. Relativamente à alimentação de galinhas, alguns estudos procuraram encontrar uma relação entre o uso de dreche como suplemento na alimentação e o desempenho e qualidade dos

ovos postos. Os resultados obtidos não são consensuais acerca do benefício desta prática (Bachmann *et al.*, 2022). Gebremedhn *et al.* (2019) concluíram que uma porção de até 40 % adicionada à alimentação de galinhas não tem efeito na produção e qualidade dos ovos postos. Por outro lado, Mafeni & Fombad (2001) e López *et al.* (1981) reportaram que níveis de inclusão de dreche entre 30 % e 45 % causam uma redução significativa na produção de ovos e na qualidade da casca, respetivamente.

Devido ao alto conteúdo em fibras, a presença de macronutrientes, como lípidos e ácidos gordos, vários estudos avaliaram a capacidade nutricional e os benefícios económicos da dreche como ingrediente na alimentação humana (Bachmann *et al.*, 2022). Entre estes, as mais relevantes utilizações e conteúdo recomendado de dreche, estão apresentadas na Tabela 3. A adição de dreche melhora as propriedades nutricionais e sensoriais dos alimentos. No caso do pão, por exemplo, a adição de 10 %, permite a obtenção de um aumento de 50 % e 10 % no conteúdo em proteína e aminoácidos essenciais, respetivamente, e duplica o conteúdo de fibra comparado com pães tradicionais. Para além disso, os pães apresentam um conteúdo energético 7 % menor (Mussatto *et al.*, 2006). Os valores recomendados de conteúdo de dreche não devem ser ultrapassados pois o sabor característico da dreche pode influenciar o sabor dos produtos desejados.

Tabela 3 – Utilização recomendada de dreche na confeção de determinados géneros alimentícios

Produto	Pão	Snacks	Bolachas	Bolo	Hambúrguer
Conteúdo em Dreche	≤ 10 %	≤ 10 %	6 % a 15 %	10 % a 30 %	1 % a 3 %
Referência	(a)	(b)	(c)(d)	(e)	(f)

(a) – Waters *et al.*, 2012; (b) – Ktenioudaki *et al.*, 2013; (c) – Ajanaku *et al.*, 2011; (d) – Chiş *et al.*, 2020; (e) – Santos *et al.*, 2017; (f) – Saraiva *et al.*, 2019

A ingestão de produtos derivados da dreche, permite a obtenção de benefícios para a saúde, associados a um peso fecal superior, aceleração da digestão, aumento da libertação de gordura e colesterol, e diminuição de cálculos biliares (Fastnaught, 2001).

A dreche, na sua constituição, contém compostos fenólicos. Estes compostos inibem a atividade microbiana, retardando a degradação dos alimentos, havendo assim a possibilidade de os utilizar com funções antioxidantes e de preservação. Alguns estudos investigaram a composição fenólica (Munekata *et al.*, 2016), atividade antioxidante e antimicrobiana, técnicas de extração (Coelho *et al.*, 2016) e potencial dos compostos fenólicos como aditivos em comidas e bebidas (McCarthy *et al.*, 2013). Os compostos fenólicos extraídos de dreche são naturais e constituem uma alternativa a aditivos sintéticos

(Bachmann *et al.*, 2022). Neste contexto, McCarthy e colaboradores (McCarthy *et al.*, 2013) usaram extratos fenólicos de dreche como aditivo em sumos de fruta, indicando, em alguns casos, um melhoramento significativo na atividade antioxidante.

### 3.3. Utilização como adsorvente

Com o seu custo reduzido e elevada disponibilidade, a dreche pode ser uma solução que cumpra a necessidade de adsorventes rápidos, eficientes e económicos. Diferentes materiais são utilizados como adsorventes sólidos, podendo estes ser de origem natural ou sintética. Estes incluem carvão ativado, argilas, zeólitos, cinzas volantes, dióxido de titânio, óxidos metálicos como  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (óxido de alumínio), entre outros (Treto-Suárez *et al.*, 2020). No entanto, um dos problemas associados ao processo da adsorção é a capacidade de regeneração dos adsorventes. Assim sendo, são procurados adsorventes alternativos, entre os quais a dreche, que tem potencial de uso na remoção de diferentes poluentes (Bachmann *et al.*, 2022).

Na Tabela 4, estão apresentados resultados obtidos em diferentes estudos. Estes colocam a capacidade de adsorção da dreche entre  $29,1 \text{ mg g}^{-1}$  e  $72,4 \text{ mg g}^{-1}$ . A capacidade de adsorção, corresponde, à quantidade máxima de soluto (em massa) que pode ser adsorvida por unidade de massa de adsorvente, em condições de equilíbrio. Para o mesmo soluto e diferentes adsorventes, a capacidade de adsorção será diferente. A capacidade de remoção de iões  $\text{Fe}^{2+}$  pela dreche foi determinada como sendo  $4 \text{ mg g}^{-1}$ , resultado superior quando comparado com os valores obtidos por adsorção com fibras de coco e resíduos de casca de pinheiro,  $2,8 \text{ mg g}^{-1}$  e  $2,0 \text{ mg g}^{-1}$ , respetivamente (Fontana *et al.*, 2018). O potencial de adsorção da dreche frente a alguns poluentes, iões metálicos e corantes está apresentada na Tabela 4.

Poucos artigos estudam as propriedades estruturais e físico-químicas do ponto de vista da adsorção. A capacidade de adsorção de um sólido está associada a propriedades estruturais tais como a porosidade e a área superficial específica, e a presença de grupos carbonilo e carboxilo na superfície. Este facto torna a comparação de resultados difícil.

A eficiência de remoção pode ainda ser melhorada através de processos químicos e físicos que convertam a dreche em adsorventes com propriedades melhoradas, nomeadamente magnéticas, para a adsorção de corantes, e com poliacrilamida, para a remoção de arsenito – As (III) – (Bachmann *et al.*, 2022).

Tabela 4 – Eficiência (E) e capacidade de adsorção da dreche ( $Q_a$ ) para remoção de corantes e iões metálicos

Adsorvente	Poluente	Modo	E/%	$Q_a$ /(mg g <sup>-1</sup> )	Referência
Dreche magneticamente modificada	<i>Aniline Blue</i>	<i>batch</i>	71	44,7	(a)
	<i>Bismarck Brown Y</i>		40	72,4	
	<i>Crystal violet</i>		75	40,2	
	<i>Nile blue A</i>		98	64,1	
Dreche modificada com poliacrilamida	As (III)	contínuo	91	n.d.	(b)
Dreche seca	Pb (II)	<i>batch</i>	91,2	29,1	(c)
Dreche seca	<i>Reactive blue BF-5 G</i>	<i>batch</i>	84,4	42,6	(d)

(a) – Safarik et al., 2011; (b) – Chen et al., 2016; (c) – Fontana et al., 2016; (d) – Juchen et al., 2018

A interferência de outras substâncias e iões na eficiência de adsorção são pormenores que devem ser mais explorados, pois efluentes líquidos possuem na sua constituição várias outras substâncias para além do poluente específico. Grande parte dos estudos utilizam soluções aquosas nos testes; no entanto, Fontana *et al.* (2018) utilizaram matrizes reais de água de superfície e água subterrânea. Estes autores obtiveram uma remoção de 80 % para iões Fe e Mg<sup>2+</sup> para ambas as matrizes. Apesar disto, é ainda necessário realizar estudos sobre sistemas binários e multicomponente. Para além disto, grande parte dos estudos são realizados em *batch*, sendo que para que o uso de dreche como adsorvente ser aplicado numa escala superior, é necessário que sejam realizados estudos em condições de sistema contínuo (Bachmann *et al.*, 2022).

### 3.4. Remediação de solos

O azoto e o fósforo, presentes na composição da dreche, são utilizados como nutrientes por plantas e microrganismos. Considerando isto, existe a possibilidade de empregar indiretamente a dreche em biorremediação e fitorremediação de solos contaminados por óleo de motor (Abioye *et al.*, 2010) e óleo lubrificante gasto (Agamuthu *et al.*, 2010), hidrocarbonetos pesados provenientes de petróleo crude (Martinkosky *et al.*, 2017) ou oxidação de metano (Shangari & Agamuthu, 2012).

Agamuthu *et al.* (2010) estudaram a degradação de óleo lubrificante através da fitorremediação com *Jatropha curcas*, espécie de planta da família Euphorobiaceae, com adição de dreche. Foi obtida uma remoção de 89,6 % do lubrificante do solo contaminado. Os autores concluíram ainda que a planta suplementada com a dreche cresce melhor e, além disso, atinge maior altura (cerca de 20 %).

Apesar da biorremediação e a fitorremediação serem processos limpos e ecológicos para a biodegradação de poluentes do solo, e mesmo denotando bons resultados na aplicação de dreche como precursor da remediação de solos, outros fatores têm importância. O longo tempo necessário para ocorrer degradação, o espaço físico e as elevadas concentrações, associadas a altos níveis tóxicos, devem ser também considerados e são fatores que impedem que estes processos sejam financeiramente atrativos. Neste sentido, incentivos monetários são cruciais para exponenciar a materialização de projetos de remediação de solos (Bachmann *et al.*, 2022).

### 3.5. Produção de *biochar*

A presença elevada de fibras vegetais, hemicelulose, celulose e lignina, tornam a dreche um material de interesse elevado para obtenção de *biochar*, bio-carvão produzido por pirólise de biomassa. O *biochar* produzido a partir da dreche, tem potencial de uso como adsorvente, como combustível alternativo ou precursor de catalisadores. Para além destas aplicações, o *biochar* pode ser usado para remediação de solos, sendo esta a sua aplicação mais promissora, permitindo a retenção de carbono no solo durante maiores períodos quando comparado com biomassa não pirolisada (Shaaban *et al.*, 2018).

Okamoto *et al.* (2002) desenvolveram tijolos de carvão a partir de dreche, tendo avaliado as suas propriedades físico-químicas. Neste processo, a dreche é seca, prensada e carbonizada sob uma atmosfera de baixo teor em oxigénio. O *biochar* obtido tinha na sua composição minerais, entre os quais cálcio, magnésio e fósforo e um alto poder calorífico, que se equipara com o poder calorífico de outros *biochar* produzidos frequentemente a partir de diferentes matérias-primas (Tabela 5).

Normalmente, realiza-se uma pirólise rápida, com apenas alguns segundos de tempo de residência, quando se pretende maximizar o rendimento em produto líquido. Pirólise lenta, utiliza-se quando se pretende maximizar a produção de *biochar* sólido. Adicionalmente, a temperatura de pirólise é um fator importante que fortemente impacta a carbonização da biomassa e, conseqüentemente, o rendimento em *biochar* e as suas propriedades, para além do consumo energético. A degradação térmica da hemicelulose, celulose e lignina é, tipicamente, iniciada a temperaturas de 240 °C, 340 °C e 370 °C,

respetivamente. Com o aumento da temperatura, 400 °C a 700 °C, o rendimento em *biochar* decresce (Bachmann *et al.*, 2022).

Tabela 5 – Poder calorífico (PC) de *biochar* produzido a partir de diferentes matérias-primas (adaptado de Mussatto *et al.*, 2006)

Matéria-Prima	PC/(MJ kg <sup>-1</sup> )
Madeira	25,5
Dreche	27,0
Cana de Açúcar	29,3
Bagaço de Uva	30,0
Bagaço de Azeitona	31,0
Casca de Avelã	32,0

Há pouca literatura que refira a influência da composição da dreche nas características do *biochar*. Kwon *et al.* (2020), afirmam que o rendimento tende a aumentar na presença de altas concentrações de lignina, pois esta não é completamente decomposta sob intervalos de temperaturas típicos de pirólise.

### 3.6. Incorporação em materiais compósitos

Um material compósito é um material que é produzido a partir de dois ou mais materiais componentes. Estes componentes possuem propriedades físico-químicas distintas, sendo combinados com o intuito de criar um material com propriedades diferentes dos componentes individuais. Dentro da estrutura finalizada, os elementos permanecem separados e distintos, o que distingue materiais compósitos de misturas e de soluções sólidas (ACMA, 2022).

Polímeros reforçados por fibras naturais são uma alternativa interessante e que têm visto um crescimento em popularidade. A aplicação mais importante é na obtenção de polímeros biodegradáveis que sirvam de revestimento para alimentos. Atualmente, o poliestireno expandido é o material mais comum utilizado para este fim devido à sua alta resistência, baixa densidade, resistência a água e baixo custo de produção. No entanto, este material é baseado em petróleo, levando assim um longo tempo a ser degradado (Bachmann *et al.*, 2022).

Neste sentido, Mello & Mali (2014) produziram tabuleiros de amido de mandioca combinados com dreche. Os autores concluíram que cada tabuleiro produzido durante o estudo resultou numa boa aparência, expansão adequada e uma distribuição homogênea da dreche na matriz polimérica. Adicionalmente, a incorporação da dreche acima de 10 %, em massa, resultou num aumento da hidroscoopia, a capacidade de certos materiais de absorver água. Assim sendo, a principal aplicação destes tabuleiros está associada ao embalamento de comida, principalmente alimentos secos com tempo de prateleira baixo.

Outros autores desenvolveram filmes compósitos utilizando pectina e dreche como agente de reforço (Mendes *et al.*, 2020). A incorporação de 5 % a 15 % de dreche, em massa, permitiu uma redução na velocidade de transmissão de vapor de água, tal como da hidroscoopia dos filmes de pectina, e ainda uma melhoria na deformação dos filmes, de aproximadamente 57 %. Paralelamente, a adição de diferentes concentrações de dreche, melhorou as propriedades mecânicas e físicas do filme, demonstrando um efeito protetivo contra degradação induzida por raios ultravioleta. Estas propriedades, demonstram que há valor na aplicação da dreche na indústria alimentar.

A baixa concentração de cinzas e a característica alta concentração de materiais fibrosos, torna a dreche adequada para a produção de materiais de construção. A utilização da dreche com o intuito de aumentar a porosidade de tijolos, resultou ainda na melhoria das suas características secas, ao mesmo tempo que não comprometeu a qualidade do tijolo nem a sua cor, não sendo necessário efetuar alterações nas operações de produção (Russ *et al.*, 2005).

A natureza fibrosa da dreche levou ainda a outras investigações, entre elas a produção de papel, guardanapos, cartões de negócio ou porta-copos, conferindo uma textura de alta qualidade aos produtos (Ishiwaki *et al.*, 2000).

### 3.7. Utilização em biorrefinarias

As paredes celulares da dreche são ricas em celulose e polissacarídeos não-celulósicos. Estes polissacarídeos podem ser degradados nos seus diferentes constituintes através de processos hidrolíticos (hidrotérmicos, enzimáticos ou ácidos). Por hidrólise, a celulose produz glucose e outros polissacarídeos não-celulósicos, xilose, manose, galactose e arabinose tal como ácido acético e ácido hidroxicinâmico. Alguns destes produtos são de significância industrial como precursores de químicos de grau alimentar ou como fontes de energia em fermentações microbianas (Bachmann *et al.*, 2022).

O alto conteúdo da dreche em água, proteína e açúcares fermentescíveis, torna esta matéria uma matéria-prima sustentável para a obtenção de bioprodutos de alto valor acrescentado por transformação microbiana. Estudos demonstram a possibilidade de utilizar dreche para a produção de ácidos gordos e carotenoides (Klempová *et al.*, 2020), produção de enzimas (da Silva Menezes *et al.*, 2017), produção de etanol (Kopsahelis *et al.*, 2012), produção de biopolímeros (Mendez *et al.*, 2018), enriquecimento proteico (Canedo *et al.*, 2016), obtenção de biocidas (Sharapova, 2019), ou obtenção de açúcares fermentescíveis (da Silva Menezes *et al.*, 2017). Além disso, a dreche pode ser usada para a obtenção de furfural, um químico utilizado na indústria química na síntese de vários compostos tais como alcanos líquidos e aditivos de combustível (Szubiakiewicz *et al.*, 2020).

A seleção do tipo de fermentação para o processo de bioconversão é altamente dependente dos tipos de resíduos usados como matéria-prima. No caso da dreche, a fermentação em substrato sólido é usualmente aplicada devido às vantagens económicas e biotecnológicas, enquanto fermentação submersa é mais adequada ao substrato líquido (Bachmann *et al.*, 2022).

### 3.8. Aditivo na produção de cerveja

De um ponto de vista da economia circular de uma cervejeira, a reutilização da dreche no próprio processo de produção de cerveja pode ser atrativo. Roberts (1976) demonstrou que o concentrado de dreche prensada pode ser utilizado como um agente anti-espuma no fermentador, bem como para melhorar a utilização de lúpulo sem que as propriedades finais da cerveja sejam alteradas. O desempenho da fermentação é também melhorado com a adição de dreche não tratada; no entanto, isto causa sabores e cheiros não satisfatórios na cerveja final. Isto pode ser resolvido utilizando extrato ácido de dreche, neutralizado, o que permite obter cerveja de qualidade, igual a uma fermentada sem adição de dreche (Mussatto *et al.*, 2006).

Dreche pré-tratada com ácido clorídrico e hidróxido de sódio pode também ser utilizada como suporte para a imobilização de levedura. O suporte celulósico obtido por Brányik *et al.* (2001) demonstrou ser bastante eficiente devido à alta capacidade de carga de levedura, que é determinada pelas características físico-químicas e bioquímicas tanto das células como dos suportes. A irregularidade e não homogeneidade da dreche garantem que existam vários sítios ativos prontos a ser colonizados por leveduras. A dreche é considerada uma alternativa promissora na imobilização de leveduras quando comparada com outros materiais normalmente utilizados para o efeito. Além disto, apresenta vantagens

de um ponto de vista económico devido à fácil preparação, capacidade de reutilização, disponibilidade e a sua natureza inerte não tóxica (Brányik *et al.*, 2001).

A realização de fermentação contínua de cerveja, apesar de várias vantagens (permite obter maior quantidade de produto, não requer limpeza do fermentador após cada extração de produto, alta eficiência), tem poucas aplicações práticas devido a fatores como maior complexidade operacional, em relação ao processo descontínuo, riscos de contaminação, problemas de gosto e aroma, viabilidade celular, inconveniência do processo de imobilização e preço do suporte. Visto que o preço do suporte é um fator limitante em termos da viabilidade económica, é pertinente a procura por suportes baratos e fáceis de produzir. Nesse sentido, Brányik *et al.* (2002), desenvolveram um suporte de base celulósica a partir da dreche. O suporte foi preparado a partir de dreche através de uma hidrólise ácida do endosperma amiláceo residual e uma deslenhificação simples parcial dos sólidos restantes após o tratamento ácido. Os autores obtiveram um rendimento de 10 % em peso, contendo o suporte cerca de 90 % de hemicelulose, em peso. O suporte demonstrou ir de encontro às necessidades de uma alta carga celular, estabilidade, capacidade de esterilização e regeneração, e aptidão para uso alimentar.

## Capítulo 4. Caso de estudo: O reaproveitamento da dreche produzida na empresa Portuguese Craft Beer, utilizando *Pleurotus ostreatus*

A adoção, em 2015, por parte da União Europeia, do Plano de Ação para a Economia Circular, iniciou uma procura de novos e mais eficientes meios de utilização de recursos naturais e produtos antrópicos tendo em conta uma economia virada para o ambiente (CE, 2015). A este respeito, assiste-se, atualmente, a uma tendência global a favor da redução da poluição ambiental causada por subprodutos de atividades industriais. Dentro dos diferentes resíduos industriais, aqueles resultantes de atividades agroindustriais caracterizadas pela presença de materiais lignocelulósicos representam um caso bastante interessante. Estes produtos devem ser, sobretudo, valorizados através da aplicação de técnicas apropriadas e processos de economia circular. Adicionalmente, a composição nutricional destes resíduos, entre eles a dreche, justifica que sejam caracterizados como matérias-primas e não apenas como resíduos ou subprodutos industriais (Eliopoulos *et al.*, 2022). A constituição maioritária em celulose, hemicelulose, lignina e proteína é indicativa da possibilidade de reutilização destes resíduos tal como exposto no Capítulo 3. Estes constituintes são ainda atrativos para serem utilizados como substrato de fermentação em substrato sólido (FSS), um procedimento passível de ser iniciado por vários fungos. Estes organismos são conhecidos pela sua capacidade de degradação de vários materiais lignocelulósicos e de posterior transformação em novos materiais úteis.

Os criadores de gado, os principais utilizadores de dreche, interessam-se por produtos que apresentem conteúdos altos em proteína, alta digestibilidade e que sejam naturais, que permitam um balanço nutricional na correto na alimentação dos animais. A dreche é capaz de cumprir estes requisitos, mas o seu valor comercial seria maior se a quantidade de proteína e digestibilidade aumentassem, através de processos de baixo custo acrescentado. Além do mais, algumas atividades biológicas, entre as quais antibacteriana e antioxidante, são importantes para a aplicação como alimento (Ibarruri *et al.*, 2019). Paralelamente, o perfil nutricional único da dreche, constituído maioritariamente por carbono, sódio e potássio, justifica a sua utilização como matéria-prima predominante a ser utilizada em conjugação com outros cereais, forragens e suplementos proteicos para a produção de rações animais com alto impacto no crescimento animal. Assim, há uma procura pela melhoria do conteúdo nutricional da dreche de modo a obter um valor comercial superior, ao mesmo tempo que se garante ao animal nutrientes, e compostos bioativos. A este respeito, o conteúdo melhorado em proteínas, perfil de aminoácidos e  $\beta$ -glucanos, contribuirá positivamente para uma melhora da saúde e bem-estar animal, tal como a qualidade da carne produzida (Eliopoulos *et al.*, 2022).

Para além da indústria agropecuária, a dreche, tal como quaisquer outros subprodutos de indústrias alimentares, produzidos em elevados volumes, pode ser reaproveitada sobre a forma de ingredientes alimentares ou para extração de enzimas quando utilizadas tecnologias apropriadas que permitam a valorização destes. Compostos interessantes para a aplicação industrial podem ser aplicados usando diferentes estratégias de fermentação, tais como fermentação em substrato sólido e fermentação submersa. Recentemente, FSS tem ganho notoriedade como sendo um processo eficiente para a produção de enzimas e outros compostos tais como fenóis, vitaminas e compostos aromáticos. Os fungos, os principais microrganismos utilizados em FSS, são conhecidos pela sua capacidade de produzir enzimas capazes de degradar as paredes celulares e de melhorar a composição bioquímica e bioatividade dos substratos utilizados. A fermentação com fungos, aplicada a alimentos, melhora a digestibilidade e disponibilidade de proteínas, ao mesmo tempo que previne o crescimento de microrganismos patogénicos e bactérias indesejadas através da produção de compostos com capacidade antibacteriana. Um dos géneros de fungo mais utilizados para a FSS é o *Rhizopus*. Este género inclui várias espécies utilizadas para a produção de enzimas (glucoamilase, celulase, tanase), ácidos orgânicos (ácido láctico, ácido fumárico) e preparações de produtos alimentícios animais e humanos (Ibarruri *et al.*, 2019). *Tempeh*, um prato tradicional indonésio é produzido através da fermentação de grãos de soja usando *Rhizopus oligosporus*. Este prato é considerado uma refeição rica em proteínas, vitaminas e minerais. O uso de *R. oligosporus* permite a obtenção de uma digestibilidade superior da proteína presente na soja, a decomposição de fatores anti-nutricionais presentes e a melhoria do conteúdo nutricional (Cooray & Chen, 2018).

A FSS constitui um processo amigo do ambiente capaz de melhorar matérias-primas, de modo a ultrapassar o problema do baixo conteúdo em proteína e alta concentração de fibras. Na literatura, grande parte da informação relativa a este processo baseia-se em fungos do género *Rhizopus*. Assim, o objetivo deste capítulo passa por estudar, com base na literatura, a utilização de fungos *Pleurotus ostreatus* em FSS, de modo a verificar a possibilidade de conversão da dreche num novo produto com conteúdo proteico melhorado. Além disso, sendo o *Pleurotus ostreatus* um fungo edível, ponderou-se um possível aproveitamento dos cogumelos gerados.

#### 4.1. Fermentação em substrato sólido

Poucos estudos na literatura analisam a realização de FSS com *Pleurotus ostreatus* na dreche com o objetivo final de melhorar as qualidades nutricionais desta. Assim sendo, esta secção procura analisar

este caso, a partir dos poucos estudos existentes, bem como de outros que utilizam matérias-primas semelhantes como substrato para a FSS.

*P. ostreatus* é um basidiomiceto edível que tem a capacidade de colonizar e degradar materiais lignocelulósicos através de secreção de enzimas classificadas como hidrolíticas (celulases, endoglucanases e  $\beta$ -glucosidases para a degradação de celulose e endoxilanasas e endomananasas para a degradação da hemicelulose) e oxidativas (lacases, lignina-peroxidases, manganês-peroxidases) (Ritota & Manzi, 2019). A sua capacidade de iniciar a bioconversão via FSS para a produção de produtos de alto valor acrescentado, pode ser utilizada na produção de antibióticos, aminoácidos, biocombustíveis, ácidos orgânicos, biopolímeros ou enzimas (Eliopoulos *et al.*, 2022).

O conteúdo proteico resultante da fermentação é o fator mais crucial para se afirmar que houve uma melhoria do valor da dreche. O preço comercial sob a forma de suplemento para alimentação animal está fortemente associado ao seu conteúdo proteico, logo, qualquer bioprocessamento que contribua para o incremento da proteína, auxiliará num aumento do preço comercial. Eliopoulos e colaboradores obtiveram um aumento do conteúdo proteico gradual durante a fermentação, obtendo um aumento de 49,49 %, atingindo um valor de 25,01 %, partindo de um valor inicial de 16,73 % (Eliopoulos *et al.*, 2022). Este resultado é equiparável aos resultados obtidos por Ibarruri *et al.* (2019). Os autores registaram um aumento das proteínas presentes na dreche, de 54,63 % (20,5 % para 31,7 %) através da FSS realizada com fungos *Rhizopus* sp., denotando-se um padrão semelhante entre os dois estudos, apesar da concentração inicial inferior de proteína nos estudos de Eliopoulos *et al.* (2022). Em estudos semelhantes (FSS de palha de sorgo com *P. ostreatus*), Akinfemi *et al.* (2010) obtiveram um aumento de 77,56 % no conteúdo proteico (de 2,54 % para 4,51 %). Estes autores afirmam que este aumento do conteúdo proteico é resultante da excreção de certas enzimas extracelulares, proteases, para a dreche aquando da sua decomposição e subsequente metabolismo por parte do fungo. Adicionalmente, isto pode ser explicado pelo aumento da ingestão de azoto em excesso por via da fermentação aeróbica. Darwish *et al.* (2012), fazendo FSS de talo de milho com *P. ostreatus*, reportam que o aumento do conteúdo proteico pode ser resultado da acumulação de biomassa fúngica. Ainda, Heidari *et al.* (2022), fazendo FSS de farinha de canola com *P. ostreatus*, obteve após 12 dias de fermentação, um aumento entre 11 % a 18 % no conteúdo proteico. Assim sendo, tendo em conta estes resultados, é possível concluir que existe a possibilidade de se melhorar o conteúdo proteico e, elevar o seu valor como substrato adequado e enriquecido para alimentação de gado.

Relativamente às fibras, Eliopoulos *et al.* (2022) obtiveram uma variação ao longo dos 12 dias de fermentação com um ligeiro aumento no final da fermentação, resultante de um aumento paralelo da concentração de lignina, apesar de uma diminuição do conteúdo de celulose. No entanto, Akinfemi *et al.* (2010), registaram uma diminuição de 15,13 % no conteúdo de fibras. Apesar de ser conhecida a capacidade das enzimas produzidas por *P. ostreatus* degradarem as fibras de modo a libertar nutrientes, na literatura encontram-se resultados contraditórios neste aspeto. Por exemplo, Lo *et al.* (2001), reportaram que a lignina atua como um inibidor da desintegração da celulose e da hemicelulose, limitando a disponibilidade dos nutrientes para o crescimento dos fungos. Igualmente, Philippoussis *et al.* (2003), registaram que os valores de eficiência biológica obtidos eram negativamente influenciados pelo conteúdo de lignina do substrato. Contrariamente, Obodai *et al.* (2003) e Salmones *et al.* (2005), respetivamente, reportam uma correlação positiva entre o rendimento da produção de cogumelos e o conteúdo de celulose e lignina, e espécies e estirpes de *Pleurotus* degradam hemicelulose, celulose e lignina seletivamente e distintamente. Recentemente, Ivarsson e colaboradores, utilizando favas como substrato para a fermentação de *Pleurotus ostreatus*, obtiveram um aumento significativo da concentração de fibras, que atribuíram ao uso preferencial de hidratos de carbono solúveis mais facilmente acessíveis para o fungo (Ivarsson *et al.*, 2021). O potencial de degradação de materiais lignocelulósicos por parte de fungos *Pleurotus* sp. permite a obtenção de produtos que possibilitam uma digestão melhorada (Akinfemi *et al.*, 2010). Assim sendo, apesar da capacidade de degradação de materiais lignocelulósicos por parte de *Pleurotus ostreatus*, novos estudos seriam necessários de modo a verificar esta capacidade, para que o seu uso se possa alastrar para a alimentação humana, podendo ser utilizadas percentagens superiores de dreiche sem o entrave da digestibilidade dos produtos alimentícios.

A cevada do malte e os cogumelos são compostos por vários compostos bioativos tais como  $\beta$ -glucanos, polissacarídeos compostos por monómeros de D-glucose ligados através de ligações  $\beta$ -glicosídicas. Os  $\beta$ -glucanos da cevada são constituídos por ligações 1,3-1,4, enquanto os  $\beta$ -glucanos originários dos fungos consistem de ligações 1,3-1,6 (Eliopoulos *et al.*, 2022). Os  $\beta$ -glucanos apresentam benefícios para a saúde humana e animal, que variam dependendo das suas ligações. A Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (CE,2012) afirma que os  $\beta$ -glucanos podem exibir efeitos positivos na saúde sob certas condições, podendo estar o consumo destes, por exemplo, estar associado a uma diminuição do teor em colesterol no sangue (Steiner *et al.*, 2015). Adicionalmente,  $\beta$ -glucanos derivados de cogumelos são conhecidos pelas suas propriedades anti-tumorais e imunoestimulantes que são responsáveis pela promoção da saúde e do bem-estar (Zhu *et al.*, 2015). Eliopoulos e colaboradores,

estudaram este aspeto, tendo obtido uma descida de 75,92 % no conteúdo de  $\beta$ -glucanos 1,3-1,4, e um aumento de 115,8 % no conteúdo de  $\beta$ -glucanos 1,3-1,6. O conteúdo em  $\beta$ -glucanos 1,3-1,4 derivados da dreche foi metabolizado, o que resulta numa diminuição significativa durante o tempo de fermentação. Contrariamente, o conteúdo em  $\beta$ -glucanos 1,3-1,6, aumentou significativamente. Os autores atribuem isto ao crescimento do fungo, resultante da libertação de açúcares redutores, através da degradação das paredes celulares, açúcares estes que são consumidos por *P. ostreatus* para uso como fonte de energia, bem como de componente estrutural (Eliopoulos *et al.*, 2022).

Atualmente a empresa Portuguese Craft Beer fornece gratuitamente toda a dreche produzida para criadores de gado locais, no entanto, com esta dreche reforçada, que se verificou ser possível produzir, poderia começar a obter rendimento, por parte de criadores de gado que procurem uma ração mais fortalecida nutricionalmente. A empresa poderia também aproveitar a dreche para criar alguma espécie de alimento, por exemplo bolachas, com base da dreche proteica para a venda em retalho.

#### 4.4. Produção de *Pleurotus ostreatus*

O cogumelo *Pleurotus ostreatus* (Figura 3) foi escolhido para a realização da fermentação em substrato sólido devido ao facto de produzir cogumelos edíveis. Isto torna possível a realização de um novo reaproveitamento, possibilitando a obtenção de outra fonte de rendimento proveniente da dreche.



Figura 3 - Cogumelos *Pleurotus ostreatus* (adaptado de Moody, 2022).

Diferentes espécies de cogumelos são consumidas em todo o mundo, sob a forma de comidas tradicionais ou funcionais, bem como uma iguaria devido ao seu sabor específico e textura. De acordo com dados da Food and Agriculture Organization of the United Nations, em 2020, a produção mundial de cogumelos foi de 42,7 Mt (FAO, 2020). Os cogumelos mais produzidos são *Agaricus bisporus*, seguido por *Lentinula edodes* e *Pleurotus ostreatus* (Doroški *et al.*, 2022). Para além da alta procura devido às

propriedades sensoriais como alimento, os cogumelos *P. ostreatus* demonstram propriedades anti-carcinogénicas, anti-colesterol, anti-inflamatórias, auto-oxidativas, estimuladoras do sistema imunitário e anti-virais (Melanouri *et al.*, 2022).

A utilização de dreche como substrato para a produção de cogumelos *Pleurotus ostreatus* tem também pouca expressão na literatura. Wang *et al.* (2001) utilizaram dreche não tratada (em conjunto com diferentes fontes de azoto, como farelo de trigo, arroz e milho, e *okara* – resíduo resultante da produção de extrato de soja), como substratos para a produção de *Pleurotus ostreatus*, obtendo cogumelos com um valor nutricional superior a cogumelos crescidos noutros substratos. Estes, apresentaram uma eficiência biológica, conteúdo em aminoácidos e conteúdo em proteínas superior àqueles cultivados nos outros substratos analisados. Também, a quantidade e natureza das fontes de azoto no substrato influenciam de diferente maneira o conteúdo proteico dos cogumelos produzidos. Poucos cogumelos foram observados quando se utilizou a dreche apenas como substrato, enquanto a maior quantidade de cogumelos foi obtida com um substrato composto por 45 % de farelo de trigo e 55 % de dreche. Quando foi utilizada apenas dreche, foram formados menos cogumelos. Os autores atribuem isto à falta de hidratos de carbono de baixo peso molecular e/ou vitaminas na dreche. Adicionalmente, Wang e colaboradores, observaram um aumento de 15 %, em média, no conteúdo em proteína da dreche residual, e, paralelamente, uma diminuição do rácio lignina para celulose nos substratos, o que vai de encontro ao que foi exposto no Subcapítulo 4.1.

Gregori *et al.* (2008), nos seus estudos, obtiveram a máxima eficiência biológica (51 %) dos cogumelos de *Pleurotus ostreatus* cultivando num substrato composto por 20 % de farelo de trigo, 10 % de dreche, 68 % de serragem de faia e 2 % de carbonato de cálcio. Com substratos contendo 20 % de farelo de trigo, a atividade da lacase e da peroxidase independente de manganês (MiP), esteve presente em todas as formulações com dreche. No entanto, a atividade da peroxidase dependente de manganês (MnP), tende a diminuir quando se aumenta a percentagem de dreche. Por esta razão, os substratos com 30 % de farelo de trigo têm a tendência para originar rendimentos superiores de atividade enzimática. As atividades da lacase e da MiP são predominantes quando a adição da dreche é superior a 30 %, enquanto a atividade da MnP diminui quase completamente. Isto vai de encontro ao facto de as fontes de carbono e azoto influenciam a atividade enzimática. Assim sendo, nos estudos realizados pelos autores, o farelo de trigo pareceu ser um substrato mais apropriado no que diz respeito à atividade enzimática, o que explica o facto da maior eficiência biológica ser obtida com uma maior percentagem de farelo de trigo comparado com a dreche. Estes resultados contrastam com os resultados obtidos por Wang *et al.* (2001). Gregori *et al.* (2008) atribuem estas diferenças pronunciadas nos resultados à influência aos diferentes

processos de produção da cerveja na composição química da dreche ou por diferenças nas estripes fúngicas utilizadas.

Outro estudo, procurou produzir cogumelos *Pleurotus ostreatus* enriquecidos com selênio a partir de substratos compostos por diferentes subprodutos da indústria alimentar. Foram obtidos cogumelos com conteúdo proteico superior, utilizando um substrato composto por 75 % de bagaço de cana de açúcar e 25 % de dreche (de Souza *et al.*, 2022).

Assim sendo, existe a possibilidade de cultivar cogumelos edíveis ao mesmo tempo que se realiza fermentação em substrato sólido na dreche. De acordo com o sítio “O Sítio dos Cogumelos”, cogumelos de *Pleurotus ostreatus* têm um valor de mercado de cerca de 8,50 €/kg (O Sítio dos Cogumelos, 2022), pelo que cogumelos reforçados proteicamente teriam um valor de mercado superior, sendo esta uma possível opção rentável para o reaproveitamento da dreche por parte da empresa.

Outro estudo, realizado por González e colaboradores (González *et al.*, 2021), procurou obter um concentrado proteico, a partir de farinha de cogumelos de *Pleurotus ostreatus*. Os autores provaram ser possível obter um concentrado proteico com um potencial promissor de ser incorporado em alimentos, melhorando o valor nutricional e funcional destes. No entanto, este é um processo mais complexo, pelo que, atualmente, uma empresa de cerveja artesanal como a Portuguese Craft Beer não teria capacidade de o executar.

## Capítulo 5. Considerações finais

Esta dissertação teve como principal objetivo o estudo de diferentes aplicações para a reutilização da dreacha produzida pela empresa Portuguese Craft Beer, tendo incidido, sobretudo, na possibilidade de realização duma fermentação em substrato sólido utilizando o fungo *Pleurotus ostreatus*, com o intuito de obter uma dreacha com propriedades nutricionais melhoradas, aumentando assim o seu valor a nível monetário, ao mesmo tempo que se produzem cogumelos edíveis, podendo estes ser outra possível fonte de rendimento.

Com o estudo efetuado, é possível concluir que existem múltiplas opções para a valorização da dreacha. Estas incluem a produção de biogás, a utilização na alimentação e aditivos, a utilização como adsorvente, o uso para remediação de solos, a produção de *biochar*, a incorporação em materiais compósitos, a utilização em biorrefinarias e a utilização como aditivo na produção de cerveja. No entanto, a maior parte destas aplicações exige alguma disponibilidade de meios laboratoriais e tecnológicos, o que nem sempre é fácil conseguir numa empresa de cerveja artesanal. É nesse sentido que a fermentação em substrato sólido se mostra uma opção atrativa, pois não exige um grande esforço tecnológico e/ou laboratorial.

A análise bibliográfica efetuada permite afirmar que a realização de fermentação em substrato sólido com *Pleurotus ostreatus* pode possibilitar a produção de uma dreacha com um valor nutricional superior, ao nível do conteúdo proteico, do conteúdo em fibras e do conteúdo em  $\beta$ -glucanos, ao mesmo tempo que se obtêm cogumelos edíveis com um conteúdo em proteína superior.

No entanto, alguns dos resultados foram ligeiramente contraditórios, o que demonstra a necessidade de ser realizado um trabalho experimental, utilizando a dreacha produzida pela empresa Portuguese Craft Beer, pois, como foi observado, as diferentes técnicas de produção da cerveja, bem como as matérias-primas, influenciam a atividade enzimática iniciada pelo fungo, e, conseqüentemente, a capacidade de melhorar o valor nutricional da dreacha e a produção de cogumelos. Igualmente, seria necessário um estudo para verificar qual o melhor substrato adicional para o crescimento dos cogumelos, pois, de acordo com a pesquisa efetuada, a presença de dreacha apenas, sem complementação com outros substratos, demonstrou não ser favorável.

Para além do mencionado acima, no futuro, seria necessário realizar um estudo económico que aferisse a viabilidade do projeto, pois seria necessário introduzir na empresa uma nova

infraestrutura/divisão que garanta as condições necessárias para a realização da fermentação em substrato sólido.

## Referências bibliográficas

- Abioye, P., Aziz, A., & Agamuthu, P. (2010). Enhanced biodegradation of used engine oil in soil amended with organic wastes. *Water, Air, & Soil Pollution*, 209(1–4), 173–179. <https://doi.org/10.1007/s11270-009-0189-3>
- Agamuthu, P., Abioye, O., & Aziz, A. (2010). Phytoremediation of soil contaminated with used lubricating oil using *Jatropha curcas*. *Journal of Hazardous Materials*, 179(1–3), 891–894. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.03.088>
- Ajanaku, K., Dawodu, F., Ajanaku, C., & Nwinyi, O. (2011). Functional and nutritional properties of spent grain enhanced cookies. *American Journal of Food Technology*, 6(9), 763–771. <https://doi.org/10.3923/ajft.2011.763.771>.
- Akinfemi, A., Adu, O., & Doherty, F. (2010). Conversion of sorghum stover into animal feed with white-rot fungi: *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius*. *African Journal of Biotechnology*, 9(11), 1706–1712. <https://doi.org/10.5897/AJB10.1453>
- ACMA – American Composites Manufacturers Association. (2022). *What are Composites*. <https://discovercomposites.com/what-are-composites/>. Acedido em 14 de outubro de 2022.
- ACP – Associação Cervejeiros de Portugal. (2021). *Cervejeiros em Portugal – Guia 2020–21*.
- Bachmann, S., Calvete, T., & Féris, L. (2022). Potential applications of brewery spent grain: Critical an overview. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(1), 106951. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106951>
- Bamforth, C. (2003). *Beer: Tap into the Art and Science of Brewing*. Second edition. Oxford University Press.
- Barth-Haas Group. (2021). Beer production worldwide from 1998 to 2021. Statista. <https://www.statista.com/statistics/270275/worldwide-beer-production/>. Acedido em 8 de outubro de 2022
- Bartolomé, B., Santos, M., Jiménez, J., del Nozal, M., & Gómez-Cordovés, C. (2002). Pentoses and hydroxycinnamic acids in brewer's spent grain. *Journal of Cereal Science*, 36(1), 51–58. <https://doi.org/10.1006/jcrs.2002.0442>
- Bianco, A., Budroni, M., Zara, S., & Mannazzu, I. (2020). The role of microorganisms on biotransformation of brewers' spent grain. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(1-4), 1-18. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10843-1>

- Blandino, A., Al-Aseeri, M., Pandiella, S., Cantero, D., & Webb, C. (2003). Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Research International*, *36*(6), 527–543. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(03\)00009-7](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(03)00009-7)
- Bochmann, G., Drosch, B., & Fuchs, W. (2015). Anaerobic digestion of thermal pretreated brewers' spent grains. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, *34*(4), 1092–1096. <https://doi.org/10.1002/ep.12110>
- Bougrier, C., Dognin, D., Laroche, C., & Cacho Rivero, J. (2018). Use of trace elements addition for anaerobic digestion of brewer's spent grains, *Journal of Environmental Management*, *223*, 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.06.014>
- Boulton, C. (2013). *Encyclopedia of Brewing*. Wiley-Blackwell.
- Brányik, T., Vicente, A., Cruz, J., & Teixeira, J. (2001). Spent grains – A new support for brewing yeast immobilisation. *Biotechnology Letters*, *23*(13), 1073–1078. <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1010558407475>
- Brányik, T., Vicente, A., Cruz, J., & Teixeira, J. (2002). Continuous primary beer fermentation with brewing yeast immobilized on spent grains. *Journal of the Institute of Brewing*, *108*, 410-415. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2002.tb00569.x>
- BA – Brewers Association. (2022). *Craft Brewer Definition*. <https://www.brewersassociation.org/statistics-and-data/craft-brewer-definition/>. Acedido em 15 de outubro de 2022.
- Briggs, D., Boulton, C., Brookes, P., & Stevens, R. (2004). *Brewing Science and practice*. Woodhead Publishing Limited.
- Buller, L., Sganzerla, W., Lima, M., Muenchow, K., Timko, M., & Forster-Carneiro, T. (2022). Ultrasonic pretreatment of brewers' spent grains for anaerobic digestion: Biogas production for a sustainable industrial development. *Journal of Cleaner Production*, *355*, 131802. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.131802>
- Canedo, M., de Paula, F., da Silva, F., & Vendruscolo, F. (2016). Protein enrichment of brewery spent grain from *Rhizopus oligosporus* by solid-state fermentation. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, *39*(7), 1105–1113. <https://doi.org/10.1007/s00449-016-1587-8>
- Carvalho, A. (2018). *Cerveja artesanal Sovina: estudo de flavour e harmonizações com alimentos*. Dissertação de Mestrado Integrado em Engenharia Biológica. Universidade do Minho. <https://hdl.handle.net/1822/72318>

- CE – Comissão Europeia (2012) *Establishing a list of permitted health claims made on foods, other than those referring to the reduction of disease risk and to children's development and health*. Commission Regulation (EU) No. 432/2012 of 16 May 2012.
- CE – Comissão Europeia (2015) *Fechar o ciclo – plano de ação da UE para a economia circular*. Comunicação da Comissão ao Parlamento Europeu, ao Conselho, ao Comité Económico e Social e ao Comité das Regiões. Bruxelas.
- Celus, I., Brijs, K., & Delcour, J. (2006). The effects of malting and mashing on barley protein extractability. *Journal of Cereal Science*, *44*(2), 203–211. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2006.06.003>
- Cervantes-Ramirez, J., Vasquez-Lara, F., Sanchez-Estrada, A., Troncoso-Rojas, R., Heredia-Olea, E., & Islas-Rubio, A. (2022). Arabinoxylans release from brewers' spent grain using extrusion and solid-state fermentation with *Fusarium oxysporum* and the antioxidant capacity of the extracts. *Foods*, *11*(10), 1415. <https://doi.org/10.3390/foods11101415>
- Chen, Y., & Xiong, C. (2016). Adsorptive removal of As (III) ions from water using spent grain modified by polyacrylamide. *Journal of Environmental Sciences*, *45*, 124–130. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2015.11.020>
- Chiş, M., Pop, A., Păucean, A., Socaci, S., Alexa, E., Man, S., Bota, M., & Muste, S. (2020). Fatty acids, volatile and sensory profile of multigrain biscuits enriched with spent malt rootles, *Molecules*, *25*(3), 442. <https://doi.org/10.3390/molecules25030442>
- Coelho, E., Rocha, M., Moreira, A., Domingues, M., & Coimbra, M. (2016). Revisiting the structural features of arabinoxylans from brewers' spent grain. *Carbohydrate Polymers*, *139*, 167–176. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.12.006>
- Cooray, S., & Chen, W. (2018). Valorization of brewer's spent grain using fungi solid-state fermentation to enhance nutritional value. *Journal of Functional Foods*, *42*, 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.027>
- Cruz, J. (2007). Produção de Cerveja. In: Manuela M. Fonseca & José A. Teixeira (Eds), *Reactores Biológicos – Fundamentos e Aplicações* (pp. 277–305). LIEDEL.
- da Silva Menezes, B., Rossi, D., & Ayub, M. (2017). Screening of filamentous fungi to produce xylanase and xylooligosaccharides in submerged and solid-state cultivations on rice husk, soybean hull, and spent malt as substrates. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *33*(3), 58. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2226-5>

- Darwish, G., Bakr, A., & Abdallah, M. (2012). Nutritional value upgrading of maize stalk by using *Pleurotus ostreatus* and *Saccharomyces cerevisiae* in solid state fermentation. *Annals of Agricultural Sciences*, 57(1), 47-51. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2012.03.005>
- de Diego-Díaz, B., Fernández-Rodríguez, J., Vitas, A., & Peñas, F. (2018). Biomethanization of solid wastes from the alcoholic beverage industry: Malt and sloe. Kinetic and microbiological analysis. *Chemical Engineering Journal*, 334, 650–656. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.10.075>
- de Souza, D., da Silva, M., de Paula Alves, M., Fuentes, D., Porto, L., de Oliveira, P., Kasuya, M., & Eller, M. (2022). By-Products as substrates for production of selenium-enriched *Pleurotus ostreatus* mushrooms. *Waste and Biomass Valorization*, 13(2), 989–1001. <https://doi.org/10.1007/s12649-021-01586-9>
- Doroški, A., Klaus, A., Režek Jambrak, A., & Djekic, I. (2022). Food waste originated material as an alternative substrate used for the cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*): A Review. *Sustainability*, 14(19). <https://doi.org/10.3390/su141912509>
- El-Shafey, E., Gameiro, M., Correia, P., & Carvalho, J. (2004). Dewatering of brewer's spent grain using a membrane filter press: a pilot plant study. *Separation Science and Technology*, 39(14), 3237–3261. <https://doi.org/10.1081/SS-200028775>
- Eliopoulos, C., Arapoglou, D., Chorianopoulos, N., Markou, G., & Haroutounian, S. (2022). Conversion of brewers' spent grain into proteinaceous animal feed using solid state fermentation. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(20), 29562–29569. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15495-w>
- FAO – Food and Agriculture Organization. (2020). *Mushrooms and truffles*. Undata. <http://data.un.org/Data.aspx?d=FAO&f=itemCode%3A449>. Acedido em 22 de outubro de 2022.
- Fastnaught, C. (2001). Barley fiber. In: Susan S. Cho. & Mark L. Dreher (Eds), *Handbook of Dietary Fiber* (pp. 519–542). Marcel Dekker.
- Fontana, I., Peterson, M., & Cechinel, M. (2018). Application of brewing waste as biosorbent for the removal of metallic ions present in groundwater and surface waters from coal regions. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(1), 660–670. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.01.005>
- Fontana, K., Lenzi, G., Watanabe, E., Lenzi, E., Pietrobelli, J., & Chaves, E. (2016). Biosorption and diffusion modeling of Pb(II) by malt bagasse, *International Journal of Chemical Engineering*, 6, 1-11. <https://doi.org/10.1155/2016/4210561>.

- Forssell, P., Kontkanen, H., Schols, H., Hinz, S., Eijsink, V., Treimo, J., Robertson, J., Waldron, K., Faulds, C., & Buchert, J. (2008). Hydrolysis of brewers' spent grain by carbohydrate degrading enzymes. *Journal of the Institute of Brewing*, *114*(4), 306–314. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2008.tb00774.x>
- Funari, P. (1985). A Anforologia – uma nova disciplina arqueológica. *Revista de História*, *0*(118), 161. <https://doi.org/10.11606/issn.2316-9141.v0i118p161-170>
- Gebremedhn, B., Niguse, M., Hagos, B., Tesfamariam, T., Kidane, T., Berhe, A., Gebresilassie, L., Gebreegziabher, L., Gebremariam, T., & Gebremeskel, Y. (2019). Effects of dietary brewery spent grain inclusion on egg laying performance and quality parameters of bovans brown chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, *21*(2). <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2018-0765>
- González, A., Nobre, C., Simões, L., Cruz, M., Loredo, A., Rodríguez-Jasso, R., Contreras, J., Teixeira, J., & Belmares, R. (2021). Evaluation of functional and nutritional potential of a protein concentrate from *Pleurotus ostreatus* mushroom. *Food Chemistry*, *346*, 128884. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128884>
- Gregori, A., Švagelj, M., Pahor, B., Berovič, M., & Pohleven, F. (2008). The use of spent brewery grains for *Pleurotus ostreatus* cultivation and enzyme production. *New Biotechnology*, *25*(2–3), 157–161. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2008.08.003>
- Heidari, F., Øverland, M., Hansen, J., Mydland, L., Urriola, P., Chen, C., Shurson, G., & Hu, B. (2022). Solid-state fermentation of *Pleurotus ostreatus* to improve the nutritional profile of mechanically-fractionated canola meal. *Biochemical Engineering Journal*, *187*, 108591. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2022.108591>
- Ibarruri, J., Cebrián, M., & Hernández, I. (2019). Solid state fermentation of brewer's spent grain using *Rhizopus* sp. to enhance nutritional value. *Waste and Biomass Valorization*, *10*(12), 3687–3700. <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00654-5>
- Ishiwaki, N., Murayama, H., Awayama, H., Kanauchi, O., & Sato, T. (2000). Development of high value uses of spent grain by fractionation technology. *MBAA Technical Quarterly*, *37*, 261–265.
- Ivarsson, E., Grudén, M., Södergren, J., & Hultberg, M. (2021). Use of faba bean (*Vicia faba* L.) hulls as substrate for *Pleurotus ostreatus* – Potential for combined mushroom and feed production. *Journal of Cleaner Production*, *313*, 127969. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127969>
- Juchen, P., Piffer, H., Veit, M., Gonçalves, G., Palácio, S., & Zanette, J. (2018). Biosorption of reactive blue BF-5G dye by malt bagasse: kinetic and equilibrium studies. *Journal of Environmental Chemistry*, *6*(6), 7111–7118. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.11.009>

- Kanauchi, O., Mitsuyama, K., & Araki, Y. (2001). Development of a functional germinated barley foodstuff from brewer's spent grain for the treatment of ulcerative colitis. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, *59*(2), 59–62. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-59-0059>
- Klempová, T., Slaný, O., Šišmiš, M., Marcinčák, S., & Čertík, M. (2020). Dual production of polyunsaturated fatty acids and beta-carotene with *Mucor wosnessenskii* by the process of solid-state fermentation using agro-industrial waste. *Journal of Biotechnology*, *311*, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.02.006>
- Kopsahelis, N., Bosnea, L., Bekatorou, A., Tzia, C., & Kanellaki, M. (2012). Alcohol production from sterilized and non-sterilized molasses by *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on brewer's spent grains in two types of continuous bioreactor systems. *Biomass and Bioenergy*, *45*, 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.05.015>
- Ktenioudaki, A., Crofton, E., Scannell, A., Hannon, J., Kilcawley, K., & Gallagher, E. (2013). Sensory properties and aromatic composition of baked snacks containing brewer's spent grain. *Journal of Cereal Science*, *57*(3), 384–390. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.01.009>
- Kunze, W. (2004). Raw Materials. In: Wolfgang Kunze (Ed.), *Technology brewing and malting* (pp. 32–95). VLB Berlin.
- Kwon, G., Bhatnagar, A., Wang, H., Kwon, E., & Song, H. (2020). A review of recent advancements in utilization of biomass and industrial wastes into engineered *biochar*. *Journal of Hazardous Materials*, *400*, 123242. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123242>
- Lo, S., Ho, Y., & Buswell, J. (2001). Effect of phenolic monomers on the production of laccases by the edible mushroom *Pleurotus sajor-caju*, and partial characterization of a major laccase component. *Mycologia*, *93*(3), 413–421. <https://doi.org/10.1080/00275514.2001.12063173>
- López, J., Carmona, J., & Pascual, J. (1981). Evaluation of brewer's dried grains in the diets of laying hens. *Animal Feed Science and Technology*, *6*(2), 169–178. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(81\)90048-1](https://doi.org/10.1016/0377-8401(81)90048-1)
- Lynch, K., Steffen, E., & Arendt, E. (2016). Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. *Journal of the Institute of Brewing*, *122*(4), 553–568. <https://doi.org/10.1002/jib.363>
- Mafeni, M., & Fombad, R. (2001). Brewer's grain from cameroon brewery in breeder chicken rations: effect on productive and reproductive performance. *Tropicultura*, *19*(2), 61–64.
- Mandalari, G., Faulds, C., Sancho, A., Saija, A., Bisignano, G., LoCurto, R., & Waldron, K. (2005). Fractionation and characterisation of arabinoxylans from brewers' spent grain and wheat bran. *Journal of Cereal Science*, *42*(2), 205–212. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.03.001>

- Martinkosky, L., Barkley, J., Sabadell, G., Gough, H., & Davidson, S. (2017). Earthworms (*Eisenia fetida*) demonstrate potential for use in soil bioremediation by increasing the degradation rates of heavy crude oil hydrocarbons. *Science of The Total Environment*, *580*, 734–743. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.020>
- McCarthy, A., O'Callaghan, Y., Neugart, S., Piggott, C., Connolly, A., Jansen, M., Krumbein, A., Schreiner, M., FitzGerald, R., & O'Brien, N. (2013). The hydroxycinnamic acid content of barley and brewers' spent grain (BSG) and the potential to incorporate phenolic extracts of BSG as antioxidants into fruit beverages. *Food Chemistry*, *141*(3), 2567–2574. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.048>
- Meegoda, J., Li, B., Patel, K., & Wang, L. (2018). A Review of the processes, parameters, and optimization of anaerobic digestion. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *15*(10), 2224. <https://doi.org/10.3390/ijerph15102224>
- Melanouri, E., Dedousi, M., & Diamantopoulou, P. (2022). Cultivating *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* mushroom strains on agro-industrial residues in solid-state fermentation. Part II: Effect on productivity and quality of carposomes. *Carbon Resources Conversion*, *5*(1), 52–60. <https://doi.org/10.1016/j.crcon.2021.12.005>
- Mello, L., & Mali, S. (2014). Use of malt bagasse to produce biodegradable baked foams made from cassava starch. *Industrial Crops and Products*, *55*, 187–193. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.02.015>
- Mendes, J., Norcino, L., Manrich, A., Pinheiro, A., Oliveira, J., & Mattoso, L. (2020). Development, physical-chemical properties, and photodegradation of pectin film reinforced with malt bagasse fibers by continuous casting. *Journal of Applied Polymer Science*, *137*(39). <https://doi.org/10.1002/app.49178>
- Mendez, D., Marti, E., Puyelo, B., Colon, J., & Ponsa, S. (2018). Evaluation of pretreatments of brewery's spent grain for growing bacteria in the production of polyhydroxyalkanoates. *Chemical Engineering Transactions*, *65*, 403–408. <https://doi.org/10.3303/CET1865068>
- Mendis, M., & Simsek, S. (2014). Arabinoxylans and human health. *Food Hydrocolloids*, *42*, 239–243. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.022>
- Meneses, N., Martins, S., Teixeira, J., & Mussatto, S. (2013). Influence of extraction solvents on the recovery of antioxidant phenolic compounds from brewer's spent grains. *Separation and Purification Technology*, *108*, 152–158. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.02.015>

- Milew, K., Manke, S., Grimm, S., Haseneder, R., Herdegen, V., & Braeuer, A. (2022). Application, characterisation and economic assessment of brewers' spent grain and liquor. *Journal of the Institute of Brewing*, 128(3), 96–108. <https://doi.org/10.1002/jib.697>
- Moody, E. (2022). *Can you grow "pleurotus ostreatus" at home? Yes, here's how!*. earth.com. [https://www.earth.com/earthpedia-articles/can-you-grow-pleurotus-ostreatus-at-home-heres-how/](https://www.earth.com/earthpedia-articles/can-you-grow-pleurotus-ostreatus-at-home-yes-heres-how/). Acedido em 29 de novembro de 2022.
- Munekata, P., Franco, D., Trindade, M., & Lorenzo, J. (2016). Characterization of phenolic composition in chestnut leaves and beer residue by LC-DAD-ESI-MS. *LWT – Food Science and Technology*, 68, 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.017>
- Mussatto, S. (2014). Brewer's spent grain: a valuable feedstock for industrial applications. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(7), 1264–1275. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6486>
- Mussatto, S., Dragone, G., & Roberto, I. (2006). Brewers' spent grain: Generation, characteristics and potential applications. *Journal of Cereal Science*, 43(1), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.06.001>
- Mussatto, S., & Roberto, I. (2006). Chemical characterization and liberation of pentose sugars from brewer's spent grain. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 81(3), 268–274. <https://doi.org/10.1002/jctb.1374>
- Mussatto, S., & Teixeira, J. (2010). Lignocellulose as raw material in fermentation processes. In: A. Méndez-Vilas (Ed.), *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology* (Vol. 2, pp. 897–907). Formatex Research Center.
- Mussoline, W., Esposito, G., Giordano, A., & Lens, P. (2013). The anaerobic digestion of rice straw: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 43(9), 895–915. <https://doi.org/10.1080/10643389.2011.627018>
- Niemi, P., Aura, A., Maukonen, J., Smeds, A., Mattila, I., Niemelä, K., Tamminen, T., Faulds, C. B., Buchert, J., & Poutanen, K. (2013). Interactions of a lignin-rich fraction from brewer's spent grain with gut microbiota in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(27), 6754–6762. <https://doi.org/10.1021/jf401738x>
- Nigam, P. (2017). An overview: recycling of solid barley waste generated as a by-product in distillery and brewery. *Waste Management*, 62, 255–261. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.02.018>
- Novak, D., Stres, B., Osojnik, G., Škrjanec, I., & Logar, R. (2011). General microbial community flexibility in biochemical methane potential assay is highly correlated to initial biogas production rates. *Acta Chimica Slovenica*, 58(1), 171–175.

- O Sitio dos Cogumelos. (2022). *Cogumelos Pleurotus*. <http://lojaositiodoscogumelos.com/>. Acedido em 23 de outubro de 2022.
- Obodai, M., Cleland-Okine, J., & Vowotor, K. (2003). Comparative study on the growth and yield of *Pleurotus ostreatus* mushroom on different lignocellulosic by-products. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, *30*(3), 146–149. <https://doi.org/10.1007/s10295-002-0021-1>
- Okamoto, H., Sato, K., Yagi, N., Inoue, M., Yamasaki, S., Ishida, S., & Shibata, J. (2002). Development of production process of charcoal bricks from spent grain. *Kagaku Kogaku Ronbunshu*, *28*(2), 137–142. <https://doi.org/10.1252/kakoronbunshu.28.137>
- Panjičko, M., Zupančič, G., Fanedl, L., Logar, R., Tišma, M., & Zelič, B. (2017). Biogas production from brewery spent grain as a mono-substrate in a two-stage process composed of solid-state anaerobic digestion and granular biomass reactors. *Journal of Cleaner Production*, *166*, 519–529. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.07.197>
- Panjičko, M., Zupančič, G., & Zelič, B. (2015). Anaerobic biodegradation of raw and pre-treated brewery spent grain utilizing solid state anaerobic digestion. *Acta Chimica Slovenica*, *62*, 818–827. <https://doi.org/10.17344/acsi.2015.1534>
- Philippoussis, A., Diamantopoulou, P., & Zervakis, G. (2003). Correlation of the properties of several lignocellulosic substrates to the crop performance of the shiitake mushroom *Lentinula edodes*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *19*(6), 551–557. <https://doi.org/10.1023/A:1025100731410>
- Pires, E., & Brányik, T. (2015). By-products of beer fermentation. In: Eduardo Pires & Tomáš Brányik (Eds), *Biochemistry of Beer Fermentation* (pp. 51–80). Springer.
- Portaria n.º 1/96, de 3 de janeiro. (1996). *Diário Da República n.º 2/1996, Série I-B*.
- Portuguese Craft Beer. (2022). <https://www.portuguesecraftbeer.pt/#>. Acedido em 17 de setembro de 2022.
- Ritota, M., & Manzi, P. (2019). *Pleurotus* spp. cultivation on different agri-food by-products: example of biotechnological application. *Sustainability*, *11*(18), 5049. <https://doi.org/10.3390/su11185049>
- Roberts, R. (1976). Use of an extract of spent grains as an antifoaming agent in fermentors. *Journal of the Institute of Brewing*, *82*(2), 96–96. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1976.tb03733.x>
- Robertson, J., l'Anson, K., Treimo, J., Faulds, C., Brocklehurst, T., Eijsink, V., & Waldron, K. (2010). Profiling brewers' spent grain for composition and microbial ecology at the site of production. *LWT – Food Science and Technology*, *43*(6), 890–896. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.019>

- Russ, W., Mörtel, H., & Meyer-Pittroff, R. (2005). Application of spent grains to increase porosity in bricks. *Construction and Building Materials*, *19*(2), 117–126. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2004.05.014>
- Safarik, I., Horska, K., & Safarikova, M. (2011). Magnetically modified spent grain for dye removal. *Journal of Cereal Science*, *53*(1), 78–80. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.09.010>.
- Salmones, D., Mata, G., & Waliszewski, K. (2005). Comparative culturing of *Pleurotus* spp. on coffee pulp and wheat straw: biomass production and substrate biodegradation. *Bioresource Technology*, *96*(5), 537–544. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.06.019>
- Santos, C., Silveira, M., Santos, A., Quatrin, A., & Rosa, C. (2017) Resource recovery in the food industry: use in the development of cakes. *International Food Research Journal*, *24*(5), 1941–1947.
- Santos, M., Jiménez, J., Bartolomé, B., Gómez-Cordovés, C., & del Nozal, M. (2003). Variability of brewer's spent grain within a brewery. *Food Chemistry*, *80*(1), 17–21. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00229-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00229-7)
- Saraiva, B., Agostinho, B., Vital, A., Staub, L., & Pintro P. (2019). Effect of brewing waste (malt bagasse) addition on the physicochemical properties of hamburgers. *Journal of Food Processing and Preservation*, *43*(10), 1–9, <https://doi.org/10.1111/jfpp.14135>
- Sežun, M., Grilc, V., Zupančič, G., & Marinšek-Logar, R. (2011). Anaerobic digestion of brewery spent grain in a semi-continuous bioreactor: inhibition by phenolic degradation products. *Acta Chimica Slovenica*, *58*(1), 158–166.
- Shaaban, M., Van Zwieten, L., Bashir, S., Younas, A., Núñez-Delgado, A., Chhajro, M., Kubar, K., Ali, U., Rana, M., Mehmood, M., & Hu, R. (2018). A concise review of biochar application to agricultural soils to improve soil conditions and fight pollution. *Journal of Environmental Management*, *228*, 429–440. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.09.006>
- Shangari, G., & Agamuthu, P. (2012). Enhancing methane oxidation in landfill cover using brewery spent grain as biocover. *Malaysian Journal of Science*, *31*(2), 91–98. <https://doi.org/10.22452/mjs.vol31no2.8>
- Sharapova, I. (2019). Prospects of using entomopathogenic fungus in development of a biopesticide product with nematicidal activity. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *19*, 101098. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101098>
- Silva, J., Sousa, S., Rodrigues, J., Antunes, H., Porter, J., Gonçalves, I., & Ferreira-Dias, S. (2004). Adsorption of acid orange 7 dye in aqueous solutions by spent brewery grains. *Separation and Purification Technology*, *40*(3), 309–315. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2004.03.010>

- Sodhi, H., Garcha, H., & Kiran, U. (1985). Screening of mycoflora of spent up brewer's grains for aflatoxin production. *Journal of Research Punjab Agricultural University*, *22*(2), 331–336.
- Steiner, J., Procopio, S., & Becker, T. (2015). Brewer's spent grain: source of value-added polysaccharides for the food industry in reference to the health claims. *European Food Research and Technology*, *241*(3), 303-315. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2461-7>
- Stewart, G., & Priest, F. (2006). *Handbook of Brewing*. Second Edition. CRC Press.
- Szubiakiewicz, E., Modelska, M., Brzezinska, M., Binczarski, M., Severino, C., Stanishevsky, A., & Witonska, I. (2020). Influence of modification of supported palladium systems by polymers: PVP, AMPS and AcrAMPS on their catalytic properties in the reaction of transformation of biomass into fuel bio-components. *Fuel*, *271*, 117584. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.117584>
- Tang, Z., Cenkowski, S., & Izydorczyk, M. (2005). Thin-layer drying of spent grains in superheated steam. *Journal of Food Engineering*, *67*(4), 457–465. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.04.040>
- Treto-Suárez, M., Prieto-García, J., Mollineda-Trujillo, Á., Lamazares, E., Hidalgo-Rosa, Y., & Mena-Ulecia, K. (2020). Kinetic study of removal heavy metal from aqueous solution using the synthetic aluminum silicate. *Scientific Reports*, *10*(1), 10836. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67720-0>
- Wang, D., Sakoda, A., & Suzuki, M. (2001). Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. *Bioresource Technology*, *78*(3), 293–300. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00002-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00002-5)
- Waters, D., Jacob, F., Titze, J., Arendt, E., & Zannini, E. (2012). Fibre, protein and mineral fortification of wheat bread through milled and fermented brewer's spent grain enrichment. *European Food Research and Technology*, *235*(5), 767–778. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1805-9>
- Xiros, C., & Christakopoulos, P. (2012). Biotechnological potential of brewer's spent grain and its recent applications. *Waste and Biomass Valorization*, *3*(2), 213–232. <https://doi.org/10.1007/s12649-012-9108-8>
- Zhu, F., Du, B., Bian, Z., & Xu, B. (2015). Beta-glucans from edible and medicinal mushrooms: characteristics, physicochemical and biological activities. *Journal of Food Composition and Analysis*, *41*, 165–173. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.01.019>