

HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE LEVEDURA RESIDUAL DE CERVEJARIA: UMA ABORDAGEM ECONOMICAMENTE VIÁVEL PARA PRODUIR HIDROLISADO PROTEICO

MÔNICA LADY FIORESE¹, WENDEL GUSTAVO VAN HELDEN¹, JACQUELINE FERANDIN HONORIO¹,
BRUNA COMARELLA DE ALMEIDA¹, CARINA CONTINI TRIQUES¹, LARISSA ECHEVERRIA¹

¹Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Toledo – Graduação e/ou Pós-Graduação em Engenharia Química
Contato: monica.fiorese@unioeste.br / Apresentador: MÔNICA LADY FIORESE

Resumo: O Brasil é o terceiro maior produtor de cerveja do mundo, gerando grandes volumes de levedura residual de cervejaria (LRC) como subproduto. A hidrólise enzimática emerge como uma solução promissora para converter a LRC em um extrato proteico de alta qualidade nutricional. No entanto, para que o processo seja economicamente viável, é fundamental otimizá-lo, minimizando principalmente a quantidade de enzimas utilizadas, e sua proporção aplicada no processo. Este fator é de suma importância, uma vez que o preço das enzimas representa uma parcela significativa dos custos de produção. Neste sentido, a presente pesquisa teve por objetivo avaliar a hidrólise enzimática utilizando enzimas comerciais em diferentes condições de pH, tempo e razão substrato:água. Obteve-se como melhor resultado um grau de hidrólise de ~67% e uma atividade antioxidante de 220,18 $\mu\text{mol Trolox equivalente L}^{-1}$, indicando que este apresenta um grande potencial para aplicações na indústria de nutrição animal, já que é uma fonte de proteína de alta qualidade, fornecendo aminoácidos essenciais para o crescimento e desenvolvimento saudável dos animais, fortalece o sistema imunológico e sua presença nas rações também pode melhorar a palatabilidade e aceitação pelos animais.

Palavras-Chaves: Proteína Alternativa; Peptídeos bioativos; Sustentabilidade; Bioeconomia Circular; Palatabilizante.

ENZYMATIC HYDROLYSIS OF SPENT BREWER'S YEAST: AN ECONOMICALLY VIABLE APPROACH TO PRODUCE PROTEIN HYDROLYSATE

Abstract: Brazil is the third largest beer producer in the world, generating large volumes of residual brewer's yeast (LRC) as a byproduct. Enzymatic hydrolysis emerges as a promising solution to convert LRC into a protein extract of high nutritional quality. However, for the process to be economically viable, it is essential to optimize it, mainly minimizing the amount of enzymes used, and their proportion applied in the process. This factor is extremely important, since the price of enzymes represents a significant portion of production costs. In this sense, the present research aimed to evaluate enzymatic hydrolysis using commercial enzymes under different conditions of pH, time, and substrate:water ratio. The best result was a degree of hydrolysis of ~67% and an antioxidant activity of 220.18 $\mu\text{mol Trolox equivalent L}^{-1}$, indicating that it has great potential for applications in the animal nutrition industry, as it is a source of high quality protein, providing essential amino acids for the healthy growth and development of animals, strengthens the immune system and its presence in feed can also improve palatability and acceptance by animals.

Keywords: Alternative Protein; Bioactive Peptides; Sustainability; Circular Bioeconomy; Palatabilizer

Introdução: 100 litros de cerveja produzem de 1,5 a 3 kg de biomassa de levedura residual de cervejaria (LRC) (PAIVA *et al.*, 2023) que costuma ser destinada a alimentação animal, mas pode ser uma fonte alternativa de proteína para hidrolisados proteicos. Quando as proteínas da levedura são fragmentadas, originam-se peptídeos bioativos que expressam atividades biológicas como antioxidante e antidiabética, além de contribuir para prevenir doenças crônicas e favorecerem respostas imunológicas (MIRZAEI *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2022). Aprimorar o processo de hidrólise enzimática é crucial para viabilizar a produção de proteínas de qualidade a partir de subprodutos para tornar o processo mais sustentável e ainda gerar produtos de alto valor a um custo competitivo. Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a hidrólise enzimática da LRC utilizando enzimas comerciais da Prozyn Biosolutions em diferentes tempos e razões substrato:água, avaliando o grau de hidrólise e a atividade antioxidante.

Material e Métodos: Matéria-prima A levedura residual de cervejaria, fornecida pela microcervejaria artesanal Fábula – Cervejas Especiais – Toledo/PR, foi coletada ao final do processo de fermentação após 5 ciclos de utilização. A matéria-prima foi inicialmente centrifugada a 4000 RPM por 15 min para remoção do licor de cerveja e demais resíduos da produção, após foi lavada com água e centrifugada, este processo foi repedido por duas vezes. Hidrólise Enzimática As hidrólises foram desenvolvidas com a aplicação simultânea de duas enzimas, YeastMax LPH, uma protease ácida, e Protezyn® NEX 101 uma preparação baseada em endoprotease neutra e exoprotease, ambas de grau alimentício e da empresa Prozyn Biosolutions. Utilizou-se concentrações fixas de 0,3% e 0,5% (enzima:proteína) para cada enzima, respectivamente. Os experimentos foram conduzidos a 60 °C e variou-se o pH (5,6-8,0), tempo (2-9 h) e a razão substrato:água (1-2,2) (planejamento experimental do tipo composto central rotacional (DCCR)). Após, a suspensão foi centrifugada a 4000 rpm por 30 min para separar a fração solúvel (hidrolisado proteico) da fração precipitada (proteína intacta ou parcialmente hidrolisada). Determinações Analíticas Determinou-se o grau de hidrólise conforme metodologia adaptada de HOYLE & MERRIT (1994). Determina-se a porcentagem de proteína solúvel (com aplicação de solução 10% de ácido tricloroacético) em relação a proteína total da matéria-prima (de acordo com MARKWELL *et al.* (1978) pelo método de Lowry). A atividade antioxidante foi avaliada pelo método ABTS seguindo a metodologia de LI *et al.* (2021).

Resultado e Discussão: Os resultados do grau de hidrólise obtidos no DCCR pouco diferiram (75 – 81%). Esse resultado é satisfatório comparado com os dados da literatura empregando outras enzimas comerciais, como MARSON *et al.* (2019) que avaliaram de forma sequencial Brauzyn™ Alcalase™, Protamex™ e Flavourzyme™, e obtiveram resultados na faixa de

41-55%. CHAE *et al.* (2001), na hidrólise de LCR, avaliaram Flavourzyme (0,6 – 2,0%) e Protamex (0,6 – 2,0%), em condições fixas (pH 6,5 e 55oC por 12 h), e alcançaram resultados de 40 a 61%. Esses resultados evidenciam que as enzimas YeastMax LPH e Protezyn® NEX 101 da empresa Prozyn Biosolutions foram mais eficazes na produção de hidrolisado proteico de LCR. A maximização das variáveis tempo e razão de proteína:água revelou que, em uma condição de 2,5% de razão e 1 h de hidrólise, foi possível alcançar um grau de hidrólise ainda significativo, ~67%. Embora ligeiramente inferior às respostas do delineamento experimental, é altamente satisfatório, oferecendo a vantagem de reduzir os custos do processo devido à menor quantidade de água adicionada e ao menor tempo de processo. Além disso, a atividade antioxidante para esta condição experimental foi de 220,18 $\mu\text{mol trolox equivalente L}^{-1}$, valor satisfatório. Estes resultados demonstram o grande potencial de uso das enzimas YeastMax LPH e Protezyn® NEX 101 da empresa Prozyn Biosolutions para transformar a LCR em uma proteína de alta performance para aplicação como ingrediente bioativo em ração animal.

Conclusão: Conclui-se que as enzimas YeastMax LPH e Protezyn® NEX 101 da empresa Prozyn Biosolutions são eficientes e economicamente mais viáveis para transformar a LCR em proteína microbiana hidrolisada, destacando-a como uma alternativa valiosa de proteína, tanto para a nutrição animal e humana de alta performance quanto para aplicações em rações hipoalergênicas para pets.

Agradecimentos: Os autores agradecem a microcervejaria artesanal Fábula – Cervejas Especiais por ceder a matéria-prima e empresa Prozyn BioSolutions pelo fornecimento das enzimas, também ao Grupo de Pesquisa em Engenharias Sustentáveis – Pós-Graduação em Engenharia Química – Unioeste – Toledo pela infraestrutura laboratorial e expertise.

Referências Bibliográficas: CHAE, Hee Jeong ; JOO, H.; IN, Man-Jin. Utilization of brewer's yeast cells for the production of food-grade yeast extract. Part 1: effects of different enzymatic treatments on solid and protein recovery and flavor characteristics. *Bioresource Technology*, v. 76, p. 253-258, 2001. HOYLE, N. T.; MERRITT, J. H. Quality of Fish Protein Hydrolysates from Herring (*Clupea harengus*). *Journal of Food Science*, v. 59, p. 76-79, 1994. LI, ZIWEI *et al.* Phytochemicals, antioxidant capacity and cytoprotective effects of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) axis extracts on HepG2 cells. *Food Bioscience*, v. 41, 2021. MARKWELL, M.A.K.; HAAS, S.M.; BIEBER, L.L.; TOLBERT, N.E. A modification of the lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples. *Analytical Biochemistry*, v. 87, p. 206–210, 1978. MARSON, G. V. *et al.* Sequential hydrolysis of spent brewer's yeast [...] into added-value biomolecules. *Process Biochemistry*, v. 84, p. 91-102, 2019. MIRZAEI, Mahta *et al.* Bioactive peptides from yeast: A comparative review on production methods, bioactivity, structure-function relationship, and stability. *Trends in Food Science & Technology*, v. 118, p. 297-315, 2021. OLIVEIRA, Ana Sofia *et al.* Valorisation of protein-rich extracts from spent brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*): an overview. *Biomass Conversion and Biorefinery*, p. 1-23, 2022. PAIVA, GABRIELA MARTINS *et al.* Use of brewer's residual yeast for production of bacterial nanocellulose with *Gluconacetobacter hansenii*. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 242, p. 124897, 2023.