

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS – UFMG
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - ICB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
ESPECIALIZAÇÃO EM MICROBIOLOGIA

Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja

Nayara Aline Muniz de Oliveira

Belo Horizonte

2011

Nayara Aline Muniz de Oliveira

Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja

Monografia apresentada ao Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para obtenção do título de Especialista em Microbiologia Ambiental e Industrial

Orientador: Prof. Carlos Augusto Rosa
Laboratório de Ecologia e Biotecnologia de Leveduras – ICB/UFMG

Co-orientador: Prof. Luiz Henrique Rosa
Laboratório de Ecologia e Biotecnologia de Leveduras – ICB/UFMG

Belo Horizonte

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESPECIALIZAÇÃO EM MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL E AMBIENTAL

Monografia intitulada "*Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja*", de autoria da aluna Nayara Aline Muniz de Oliveira, aprovada pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

Prof. Dr. Carlos Augusto Rosa – ICB/UFMG - Orientador

Prof. Dr. Luiz Henrique Rosa – ICB/UFMG – Co-Orientador

Prof^a. Dra. Carla Pataro – ICB/UFMG

Prof^a. Dra. Valeria Martins Godinho – ICB/UFMG

Belo Horizonte, 28 de julho de 2011

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais e ao meu namorado, que tanto me apoiaram.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelas oportunidades que me foram dadas na vida, principalmente por ter conhecido pessoas interessantes, mas também por ter vivido fases difíceis, que foram matérias-primas de aprendizado;

Não posso deixar de agradecer aos meus pais Devanir Adão de Oliveira e Rosimeire Muniz dos Santos, sem os quais não estaria aqui, e por terem me fornecido condições para me tornar o profissional que sou;

Ao meu namorado Welisson pelo apoio e incentivo. Meu agradecimento pelas horas em que ficou ao meu lado não me deixando desistir e me mostrando que sou capaz de chegar onde desejo, sem dúvida foi quem me deu o maior incentivo para conseguir concluir esse trabalho;

Aos meus orientadores, Prof. Carlos Rosa e Prof. Luiz Rosa pelo ensinamento indispensável no auxílio à concretização dessa monografia;

A incansável ajuda dos meus amigos: Daniel, Laura, Luciana e Aline;

Obrigada a todos.

A cerveja, se bebida com moderação, torna a pessoa mais dócil, alegra o espírito e promove a saúde.

Thomas Jefferson

RESUMO

O presente trabalho visa apresentar as leveduras responsáveis, pela fermentação alcoólica e sensorial da cerveja produzida nas cervejarias. A cerveja é uma bebida fermentada com uma história de 6.000 a 8.000 anos, cujo processo de elaboração é cada vez mais regulado e melhor controlado, tendo permanecido inalterado durante séculos. A cerveja pode ser definida como sendo uma bebida carbonatada, de baixo teor alcoólico, preparada a partir da fermentação por leveduras do malte de cevada, contendo lúpulo e água, podendo ainda utilizar-se de outras matérias-primas, como arroz, trigo ou milho. As leveduras do gênero *Saccharomyces* apresentam várias linhagens consideradas seguras para a produção da cerveja. Estas linhagens são capazes de produzir dois metabólicos primários importantíssimos na cerveja, etanol e dióxido de carbono, além dos compostos secundários responsáveis pelo gosto da bebida. O processo cervejeiro é um processo de múltiplos estágios envolvendo a conversão biológica de materiais *in natura* no produto final. A fermentação dos mostos cervejeiros pode ser influenciada por vários fatores, sendo a temperatura, um dos mais importantes. A viabilidade e a atividade dos microrganismos são de primordial importância para qualquer sucesso do processo fermentativo. As características de sabor e aroma de qualquer cerveja estão determinadas de forma preponderante pelo tipo de levedura utilizada.

Palavras-chaves: cerveja; fermentação; *Saccharomyces*.

ABSTRACT

This work presents the responsible yeast for sensory and alcohol fermentation of beer produced in breweries. Beer is a fermented beverage with a history of 6.000 to 8.000 years. The development process of the beer is increasingly better regulated and controlled. This process remained stable for centuries. Beer is considered a carbonated beverage with low alcohol, prepared from the fermentation by yeasts of barley malt, containing hops and water can be manufactured by other materials, like rice, wheat or corn. Yeast *Saccharomyces* present several lines considered safe for the production of beer. These lines produce two major metabolic beer, ethanol and carbon dioxide, and other materials responsible for the taste of the drink. The brewing process of the beer has many stages involving the conversion of biological materials *in natura* in the final product. The Brewers may be influenced by several factors – the temperature is one of the most important. The viability and activity of microorganisms are important for any successful fermentation process.

Word-keys: beer; fermented; *Saccharomyces*.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Mercado da cerveja no Brasil	14
FIGURA 2. Grãos de cevada	17
FIGURA 3. Lúpulo	19
FIGURA 4. Levedura do gênero <i>Saccharomyces</i>	21
FIGURA 5. Tempo de fermentação dos tipos <i>lager</i> e <i>ale</i> de cervejas	24
FIGURA 6. Seqüência das reações enzimáticas pela fermentação alcoólica de carboidratos endógenos (glicogênio e trealose) ou exógenos (sacarose e maltose), conduzida por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	26

LISTA DE TABELA

TABELA 1. As 10 cervejas mais consumidas no mundo	13
TABELA 2. Teor alcoólico de diferentes bebidas alcoólicas	13
TABELA 3. Variação da nomenclatura taxonômica de linhagens de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e <i>S. uvarum</i> utilizadas na fabricação da cerveja nos anos de 1952/1970/1984 e 2011.....	23
TABELA 4. Características dos tipos de cervejas	31
TABELA 5. Aspectos que relacionam às aplicações práticas e potencial da levedura cervejeira recombinante	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMBEV –	Companhia de Bebidas das Américas
EMBRAPA -	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO -	<i>Food and Agriculture Organization</i>
FDA -	<i>Food and Drug Administration</i>
SINDICERV -	<i>Sindicato Nacional da Indústria da Cerveja</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Histórico	15
2.2 Matérias primas	16
2.2.1 Água	16
2.2.2 Malte de cevada	17
2.2.3 Adjuntos do malte	18
2.2.4 Lúpulo	19
2.2.5 Leveduras	20
2.2.6 Adjuntos de fabricação	21
2.2.6.1 Antioxidantes	21
2.2.6.2 Estabilizantes	21
2.2.6.3 Acidulantes	21
2.2.6.4 Antiespumante	22
2.3 Microbiologia no processo de fabricação de cerveja	22
2.3.1 Leveduras	22
2.3.2 Carboidratos de reserva presentes na levedura	24
2.3.3 Contaminantes Microbianos no processo cervejeiro	25
2.3.3.1 Bactérias contaminantes	25
2.3.3.2 Leveduras selvagens	26
2.4 Processo fermentativo	27
2.5 Processos de produção da cerveja	32
2.6 Melhoramento genético e molecular das leveduras	34
3 OBJETIVOS	38
3.1 Objetivo geral	38
3.2 Objetivos específicos	38
4 METODOLOGIA	39
5 RESULTADOS	40
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

1 INTRODUÇÃO

Define-se cerveja como uma bebida carbonada de teor alcoólico entre 3 e 8% (v/v), preparada a partir de malte de cevada, lúpulo, fermento e água de boa qualidade, permitindo-se ainda o uso de outras matérias primas como arroz, milho e trigo (ALMEIDA E SILVA, 2005). Não se sabe ao certo a origem das primeiras cervejas, porém autores como Kunze (1996) e Aquarone (1993) acreditam que a prática da cervejaria tenha se originado na região da Mesopotâmia, onde, como no Egito, a cevada cresce em estado selvagem. Há evidências de que a cerveja feita de cevada maltada já era consumida na mesopotâmia em 6.000 a.C., e que a cerveja nesta época não era usada somente na dieta, mas também exercia função cosmética e medicinal. O sabor da cerveja é determinado pela matéria prima, pelo tipo de processo e pela levedura utilizada, além dos compostos produzidos durante a fermentação e maturação, que exercem maior impacto nas características sensoriais da bebida (CARVALHO *et al.*, 2007).

Cervejas são classificadas basicamente em dois tipos: *lager* (de baixa fermentação) e *ale* (de alta fermentação). Cervejas do tipo *lager* são fermentadas à temperatura entre 7 a 15 °C e a duração da fermentação e da maturação é de 7 a 10 dias (ARAÚJO; SILVA; MINIM, 2003). Devido às baixas temperaturas usadas no processo, os sabores e aromas das cervejas *lager* são mais suaves e leves em comparação com as *ales* (HARDWICK, 1994). As cervejas do tipo *lager*, são elaboradas com linhagens de *Saccharomyces uvarum* sendo mais populares mundialmente. As cervejas do tipo *ale* são fermentadas à temperatura de 18 a 22 °C e a duração da fermentação e da maturação é de 3 a 5 dias, são elaboradas com linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* sendo muito populares na Grã Bretanha (VARNAM, A.H.; SUTHERLAND, J.P., 1994; TIPOS DE CERVEJAS, 2010). Embora exista esta diferenciação tecnológica no setor de cervejarias, geralmente a espécie de levedura cervejeira é o *Saccharomyces cerevisiae*, sendo que outras classificações são utilizadas para agrupar diferentes linhagens de *Saccharomyces* (VAUGHAN-MARTINI; MARTINI, 1993; ANDRIETTA, S.R.; MIGLIARI, P.C.; ANDRIETTA, M.G.S.; 1999).

A produção e o consumo de cervejas no Brasil são caracterizados pela presença de poucas marcas sendo quase todas de um único tipo de cerveja, a cerveja do tipo *lager*. Outros tipos apresentam um consumo restrito, principalmente por consumidores mais exigentes em termos de qualidade sensorial, que buscam um produto diferenciado, independentemente do preço. A baixa diversidade de produtos de cervejaria brasileira contrasta com o modelo de outros países, onde se observa uma grande variedade de marcas e tipos de cervejas, com sabores e colorações distintas (TAB.1).

TABELA 1

As 10 cervejas mais consumidas no mundo

Ranking	Cerveja
1º	Bud Light
2º	Budweiser
3º	Skol
4º	Corona
5º	Brahma
6º	Heineken
7º	Miller Life
8º	Coors Light
9º	Asahi Super Dry
10º	Snow

Fonte: Sindicerv, 2011

Comparada com outras bebidas alcoólicas, a cerveja apresenta baixo teor de álcool, principalmente pela proporção de água que possui, porém contém uma grande riqueza aromática exatamente pelas características das matérias-primas utilizadas em sua preparação (TAB.2).

TABELA 2

Teor alcoólico de diferentes bebidas alcoólicas

BEBIDAS	TEOR ALCOOLICO (%v/v)
Cerveja (baixo teor)	0,2 a 2
Cerveja (médio teor)	2 a 4,2
Cerveja (alto teor)	4,2 a 8
Vinho	10 a 13
Champanhe	10 a 13
Licor	18 a 24
Whisky	24 a 36
Conhaque	24 a 36
Rum	40 a 41
Vodka	40 a 41
Gin	40 a 47
Tequila	40 a 46
Cachaça	24 a 40 ou mais

Fonte: Saúde vida, 2011

No mercado de cerveja, o Brasil só perde, em volume, para a China (35 bilhões de litros/ano), Estados Unidos (23,6 bilhões de litros/ano) e Alemanha (10,7 bilhões de litros/ano). O consumo da bebida, em 2009, apresentou crescimento em relação ao ano anterior, totalizando 10,8 bilhões de litros e o faturamento ficou em torno dos R\$ 31 milhões, de acordo com dados do Sindicerv. (Fig.1). A fabricação de cerveja passou de ser uma atividade artesanal ao longo dos anos e converteu-se em um ramo economicamente muito importante dentro da biotecnologia industrial.



FIGURA 1 - Mercado da cerveja no Brasil

Fonte: Sindicerv, 2011.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Histórico

A produção e o consumo de bebidas alcoólicas é uma das atividades mais antigas desenvolvidas pelo homem. No caso da cerveja, a mais popular das bebidas, sua produção vem de milhares de anos, sofrendo aprimoramento técnico visando o aumento da produção e do consumo. A prática da cervejaria originou-se na região da Mesopotâmia, onde a cevada cresce em estado selvagem, porém a origem das primeiras bebidas alcoólicas ainda é incerta, mas provavelmente tenham sido feitas de cevada, tâmaras, uvas ou mel. No passado o processo cervejeiro era exercido por padeiros, devido à natureza da matéria prima (grãos de cereais e leveduras). No Egito, a cerveja era uma bebida nacional e de grande consumo, ocupando um lugar importante nos rituais religiosos (DRAGONE *et al.*, 2010).

Para a produção da cerveja, a cevada era deixada de molho até germinar e após ser moída era moldada em bolos adicionando-se a levedura. Após serem assados e desfeitos os bolos eram colocados em uma jarra com água para fermentar. Esta cerveja, chamada rústica ainda é fabricada no Egito com o nome de Bouza. Após algum tempo a cerveja ficou conhecida pelos outros povos orientais, chegou até a Europa e daí para o resto do mundo. A cervejaria japonesa Kirin Brewery encontrou recentemente uma receita de cerveja extraída de murais de túmulos egípcios. Segundo a cervejaria, a bebida obtida através dessa fórmula tem cor castanha escura, gosto amargo e grau alcoólico de 10%, apresentando baixo teor de gás carbônico e quase nenhuma espuma (DRAGONE *et al.*, 2010).

Embora o lúpulo já fosse cultivado na Babilônia, não existem registros do seu uso na produção de cerveja até o ano de 1079. Tal matéria prima só foi introduzida na idade média, quando a arte cervejeira teve algum avanço dando início a produção em alto escala. A Lei Alemã “*Reinheitsgebot*”, aprovada em 1516 pelo Duque Guilherme IV, aprovou o que é conhecido hoje, como a lei mais antiga do mundo sobre a manipulação de alimentos: a cerveja deve ser produzida somente com cevada, lúpulo e água, sendo que, somente o lúpulo poderia ser utilizado para conferir o sabor amargo da cerveja produzida no país. Atualmente o lúpulo é considerado em nível mundial como uma matéria prima essencial para a produção de cerveja (DRAGONE *et al.*, 2010).

No século XIX, durante a permanência da família real portuguesa em território brasileiro, Dom João XI trouxe o hábito do consumo de cerveja para o Brasil. Nessa época,

a cerveja era importada da Holanda e Inglaterra, e somente em 1888 foi fundada a Manufatura de Cerveja Brahma Villigier e Cia na cidade do Rio de Janeiro. Em 1891 foi fundada em São Paulo a Companhia Antártica Paulista (MORADO, 2009).

O início do século XX foi marcado pelo surgimento de muitas microcervejarias, animadas com a nascente sociedade burguesa, o início da industrialização e a chegada de um grande número de imigrantes europeus. Em 1966 surge a Cerpa – Cervejaria Paraense - e em 1967 surge a Skol. Quatro anos depois, é lançada a primeira cerveja em lata brasileira, feita de folha de flandres: a Skol Pilsen. Em 1980, surge à cervejaria kaiser, em Divinópolis (MG), e em 1989 a Primo Schincariol passa a produzir cerveja no interior de São Paulo (MORADO, 2009; DRAGONE *et al.*, 2010).

Em 1999, a partir da fusão entre a Companhia Antártica Paulista e a Companhia Cervejeira Brahma, surge a AmBev. A criação da Ambev e sua posterior fusão com a gigante belga Interbrew foram dois dos fatos mais marcantes da história da cerveja brasileira e mundial das últimas décadas. Com o nome de InBev, a nova empresa mundial, a partir de 2004, tornou-se a maior produtora do mundo (MORADO, 2009).

2.2 Matérias primas

2.2.1 Água

A água é a matéria-prima mais importante na fabricação de cerveja, sendo as suas características físicas e químicas de fundamental importância para a obtenção de uma cerveja de boa qualidade (MADRID *et al.*, 1996). A sua importância é tanta que ela é um dos fatores decisivos na escolha do local para a instalação de uma cervejaria. Uma água que precisa de muitas correções da qualidade requer um tratamento mais minucioso, o que irá resultar em um aumento no custo do produto final. Então é necessário que a fábrica esteja instalada próxima a uma fonte abundante de água de boa qualidade (VENTURINI FILHO, 2000). A indústria cervejeira consome grandes volumes de água, e em média são utilizados, 10L de água, para cada litro de cerveja produzido (REINOLD, 1997).

O controle do pH da água é fundamental, pois um pH alcalino poderá ocasionar a dissolução de materiais existentes no malte e nas cascas dos cereais, que são indesejáveis no processamento da bebida. O ideal é que se tenha um pH ácido, o que facilita a atividade enzimática do grão do cereal, com um consequente aumento no rendimento de maltose, e

um maior teor alcoólico. Em geral, o pH ideal da água para a fabricação de cerveja está em torno de 6.5 a 7.0 (AMBEV, 2011).

Toda a água requer alguma forma de tratamento antes de ser utilizada em uma cervejaria, não importando se ela provém de poços artesianos, rios, lagos ou mananciais. Sendo necessário, antes de sua utilização, a análise de alguns parâmetros físicos, químicos, tais como: turbidez, dureza, pH. Para se definir o tipo de tratamento a ser empregado.

Dependendo da origem da água, todas ou apenas algumas das seguintes operações são efetuadas na cervejaria:

- a) Aeração - oxidação: para remover odores;
- b) Clarificação: adição de produtos químicos para a aglomeração ou coagulação de material em suspensão, que será decantado ou filtrado;
- c) Filtração: remoção de sólidos em suspensão;
- d) Cloração: para eliminação de micro-organismos;
- e) Desmineralização: para a remoção de sais em águas que contenham alto teor de sais dissolvidos.

2.2.2 Malte de cevada

O cereal mais usado para a fabricação de cerveja é a cevada, apesar de diversos outros cereais, como o milho, arroz, trigo, aveia podem ser utilizados também (FIG.2). Esta preferência deve-se a uma série de fatores, dentre eles está o fato da cevada ser rica em amido, cuja estrutura é modificada durante o processo de maltagem, onde o amido é convertido em açúcares, tais como a maltose e a glicose e possuir um alto teor de proteínas em quantidade suficiente para fornecer os aminoácidos necessários para o crescimento da levedura e possuir substâncias nitrogenadas que desenvolvem um papel importante na formação da espuma (NAKANO, 2000).

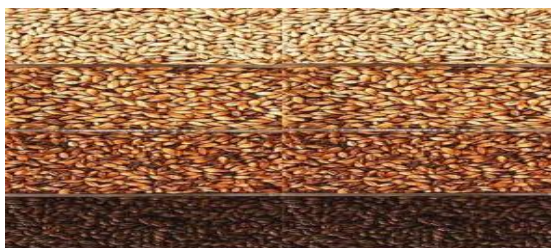


FIGURA 2 – Grãos de cevada

Fonte: AmBev, 2011

A cevada é uma gramínea pertencente ao gênero *Hordeum*, que é cultivada desde a antiguidade, sendo originária do Oriente. Dentre as espécies cultivadas existem as chamadas "cevadas cervejeiras", que são as mais utilizadas para a obtenção do malte utilizado na fabricação de cervejas. A grande maioria das espécies de cevada utilizada possui uma casca cimentada ao grão, que funciona como um agente filtrante contribuindo com o aroma, cor e sabor do mosto, além de proteger o grão de impactos mecânicos sofridos durante o processo de maltagem (EHRHARDT; SASSEN; 1995).

A cevada tem algumas características que a tornam mais adequada para a produção de cerveja do que outros cereais:

- a) Possui alto teor de amido, o que a torna atrativa em termos de custo por ser mais barata e mais fácil de maltar que outros cereais;
- b) Quando maltada, possui um teor elevado de enzimas que ajudam no processo de fabricação do mosto, principalmente na quebra do amido em açúcares;
- c) Contém outras proteínas que proporcionam equilíbrio nos efeitos em relação à espuma, ao corpo e a sua estabilidade coloidal;
- d) Possui teor de lipídios relativamente baixo, o que é vantajoso para a estabilidade de sabor da bebida.

Os tipos de cevada utilizados na fabricação de cerveja se diferenciam pelo número de fileiras de grãos: o com duas e com seis fileiras de grãos de cada lado do ramo do cereal. Esses grãos devem ter algumas qualidades específicas como o conteúdo de proteína, a taxa de gordura, o rendimento da extração e a capacidade de germinação. Somente 15% dos grãos se destinam a produção da cerveja, o restante da produção mundial acaba sendo usada na produção de ração animal.

2.2.3 Adjuntos do malte

Alguns cereais como cevada, trigo, arroz, milho, sorgo açúcar e xarope podem ser usado como adjuntos substituindo o malte. Esses elementos são adicionados na fase de fabricação do mosto proporcionando material fermentável adicional além de reduzir os custos e diminuir o teor de nitrogênio no extrato.

Os adjuntos derivados de cereal utilizados para produção de mosto de cerveja são definidos como fonte de carboidratos não malteados de composição e propriedades adequadas ao uso como matérias-primas complementares para o principal componente, o malte. Eles exercem papel complementar na produção do mosto, fornecendo açúcares

fermentáveis para a levedura cervejeira; possuem um elevado teor de amido e compostos protéicos com pouca solubilidade.

A legislação dos diferentes países europeus, quanto ao emprego de adjuntos, pode ser dividido em três grupos:

- 1º grupo: Países em que é obrigatória a utilização de 100% de malte de cevada, devido à "Lei da Pureza" (exceto para a fabricação de cervejas de alta fermentação): ex.: Alemanha e Grécia;
- 2º grupo: Países com utilização limitada de adjuntos, variando de 25 a 40%: ex.: França, Bélgica e Itália;
- 3º grupo: Países com utilização ilimitada de adjuntos, por exemplo: ex.; Dinamarca, Irlanda, Grã-Bretanha.

Nos Estados Unidos, a utilização de adjuntos atinge, em certos casos até cerca de 50% da dosagem de matérias-primas na fabricação. No Brasil, a legislação não limita o percentual de arroz, griz de milho e xarope de milho. Limita, no entanto, o emprego de açúcar em cervejas claras, que deve ficar entre 10 e 15% em relação ao extrato primitivo e 50% no caso de cervejas escuras.

2.2.4 Lúpulo

O lúpulo é uma planta da família das Cannabaceae, sendo dióica, o que quer dizer que produz flores masculinas e femininas (FIG.3). As flores são ordenadas em espigas e possuem secretoras de resinas e óleos de substâncias amargas, que dá o amargor típico e contribuem para o aroma característico da cerveja. Na fabricação de cerveja utilizam-se apenas as flores femininas, pois são estas que contém a substância amarga "lupulina". Pode ser comercializado na forma de flores secas, pó e em extratos, sendo que em pó esses extratos possuem maior densidade e, portanto, ocupam menos volume ao ser transportado.



FIGURA 3 – Lúpulo

Fonte: Cerveja artesanal, 2011.

Existem dois tipos de lúpulos fundamentais: os assim chamados de amargor e os aromáticos, conforme características de amargor ou de aroma. Os lúpulos aromáticos são usados como lúpulos de acabamento ou condicionadores e são adicionados ao mosto normalmente nos minutos finais da fervura para conferir aroma a cerveja. Lúpulos amargos são utilizados no processo de fervura para extração do amargor. Além das características citadas, dadas a cerveja pelo lúpulo, esta planta ainda possui outras funções como evitar a formação de espuma durante a fervura e funciona como agente bacteriostático (CERVESIA, 2011). O lúpulo é responsável pelo aroma acre e sabor amargo característicos da cerveja, e era usado na antiguidade como planta medicinal.

O lúpulo é utilizado em pequena quantidade, sendo necessários de 40 a 300 gramas de lúpulo para produzir 100 litros do produto final. Ao contrario do malte, o lúpulo não altera o teor alcoólico nem o corpo da cerveja (MORADO, 2009).

A maior parte da produção de lúpulo ocorre entre os paralelos de latitude 35° e 55°. Por ser uma planta muito sensível ao clima, suas características variam consideravelmente, de acordo com o microclima da região. No Brasil, varias tentativas de cultivá-lo nas Serras Gaúchas não foram bem sucedidas. Alemanha, Estados Unidos, China e Republica Checa produzem mais de 80% do lúpulo mundial, segundo a FAO (Food and Agricultural Organization, da Organização das Nações Unidas).

2.2.5 Leveduras

As leveduras são micro-organismos eucarióticos predominantemente unicelulares e pertencentes ao Reino Fungi (FIG.4). As leveduras possuem a habilidade de metabolizar eficientemente os constituintes do mosto que é um caldo resultante da mistura fervida de malte e água, rico em açúcares fermentáveis. Esse caldo é filtrado, para receber o lúpulo e o fermento ser transformado em álcool e gás carbônico a fim de produzir uma cerveja com qualidade e estabilidade sensorial satisfatória (CARVALHO et al., 2006). As leveduras mais utilizadas em cervejaria são de duas espécies do gênero *Saccharomyces*: *Saccharomyces cerevisiae* (alta fermentação) e *Saccharomyces uvarum* (baixa fermentação) (EMBRAPA, 2010). Por ser fundamental na formação de aromas na cerveja, é de suma importância que a cultura de levedura seja a mais pura possível, isto é, isenta de micro-organismos contaminantes (bactérias e leveduras “selvagens”).



FIGURA 4 – Levedura do gênero *Saccharomyces*

Fonte: Cerveja artesanal, 2011.

2.2.6 Adjuntos de fabricação

2.2.6.1 Antioxidantes

Tem como função evitar a ação do oxigênio, que é o principal fator da deterioração das gorduras dos alimentos. Quando sofrem transformações, essas gorduras acabam por alterar o sabor e odor dos alimentos, tornando-os impróprios para o consumo (NAKANO, 2000).

2.2.6.2 Estabilizantes

Os estabilizantes mantêm as características físicas das emulsões e suspensões, isto é, misturas como a bebida alcoólica. São adicionados às cervejas com a finalidade de aumentar a viscosidade. São adicionados tanto a cerveja destinada ao engarrafamento como a cerveja destinada ao embotelhamento, estabilizantes a base de alginatos (REINOLD, 1997).

Para verificar a estabilidade da espuma é usado um aparelho chamado Nibem (Haffmans), que faz os cálculos verificando o tempo que a espuma demora a baixar em um recipiente a temperatura de 20 °C (SCHINCARIOL, 2011).

2.2.6.3 Acidulantes

Atuam como adjunto de aroma e sabor, são largamente encontrados na natureza, sendo disponíveis comercialmente na forma de soluções aquosas que são incolores, inodoras, viscosas e não voláteis (CERVESIA, 2011). Estes compostos são geralmente produzidos pela fermentação de sacarose altamente refinada. Por ser um componente largamente distribuído na natureza, e um dos primeiros agentes acidificantes a ser utilizado

no processamento de alimentos, o ácido lático é utilizado na indústria cervejeira. Este componente também auxilia no ajuste do pH, diminuindo o tempo de maceração e favorecendo a precipitação das proteínas, melhorando a cor e auxiliando a filtração do mosto (REINOLD, 1997). O uso do ácido lático é reconhecido como seguro e recomendado para alimentos e bebidas por instituições internacionais de grande prestígio como o FDA norte americano e a FAO (Food and Agricultural Organization, da Organização das Nações Unidas).

2.2.6.4 Antiespumante

Atuam regulando a formação de espumas, minimizando a incidência de formação de espuma e também atuando como desespumante de ação imediata no processo de fermentação alcoólica.

2.3 Microbiologia no processo de fabricação de cerveja

2.3.1 Leveduras

As características de sabor e aroma de qualquer cerveja estão determinadas de forma preponderante pelo tipo de levedura utilizada. Embora o etanol seja o principal produto de excreção produzido pela levedura durante a fermentação do mosto, esse álcool primário tem pequeno impacto no sabor da cerveja. O tipo e a concentração de vários produtos de excreção formados durante a fermentação são quem primariamente determinam o sabor da cerveja. A formação desses compostos depende do processo metabólico do cultivo da levedura. Vários fatores podem afetar esse processo metabólico e, conseqüentemente, o sabor da cerveja, incluindo a linhagem de levedura, a temperatura e o pH da fermentação, o tipo e a proporção de adjunto, o modelo de fermentador e a concentração do mosto (MORADO, 2009)

O gênero *Saccharomyces* apresenta várias linhagens consideradas seguras e capazes de produzir dois metabolitos primários importantes, etanol e dióxido de carbono. Os tipos de cervejas mais importantes (*lager* e *ale*) são fermentados com linhagens de *S.uvarum* (*S. carlsbergensis*) e *S. cerevisiae*, respectivamente. Atualmente, taxonomistas de leveduras têm designado todas as linhagens empregadas na produção de cerveja como pertencentes a espécie *S. cerevisiae*. A tabela 3 mostra as mudanças na nomenclatura das linhagens pertencentes à espécie *S. cerevisiae*.

TABELA 3

Variação da nomenclatura taxonômica de linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* e *S. uvarum* utilizadas na fabricação da cerveja nos anos de 1952/1970/1984 e 2011

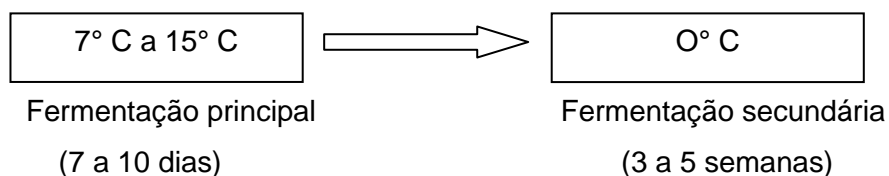
1952	1970	1984	2011
<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>		
<i>S. willianus</i>			
<i>S. coreanus</i>	<i>S. coreanus</i>		
<i>S. uvarum</i>	<i>S. uvarum</i>		
<i>S. logos</i>			
<i>S. bayanus</i>	<i>S. bayanus</i>		<i>S. cerevisiae</i>
<i>S. pastorianus</i>			
<i>S. oviformis</i>			
<i>S. beticus</i>			
<i>S. heterogenicus</i>	<i>S. heterogenicus</i>	<i>S. cerevisiae</i>	
<i>S. chevalieri</i>			
<i>S. fructuum</i>	<i>S. chevalieri</i>		
<i>S. italicus</i>			<i>S. uvarum</i>
<i>S. steineri</i>	<i>S. italicus</i>		
<i>S. globosus</i>	<i>S. globosus</i>		
	<i>S. aceti</i>		
	<i>S. diastaticus</i>		
	<i>S. prostoserdovii</i>		
	<i>S. capensis</i>		
	<i>S. inusitatus</i>		
	<i>S. hispalensis</i>		
	<i>S. cerevisiae</i>		

Fonte: Jin e Speers (1998); LIBKIND,D. (2011)

A literatura científica cita dois tipos de *Saccharomyces* com algumas diferenças bioquímicas a serem consideradas: As cepas de *S. uvarum* (*carlsbergensis*) tipo lager possuem os genes MEL que produzem a enzima extracelular α -galactosidase (melibiase), permitindo a utilização do dissacarídeo melibiose (glicose-galactose) e não apresentam crescimento a temperaturas superiores a 34°C. Já as cepas de *S. cerevisiae* tipo ale carecem desses genes MEL, o que impossibilita a utilização da melibiose e apresentam crescimento a temperaturas equivalentes a 37°C.

Tradicionalmente, a cerveja *lager* é produzida por leveduras de baixa fermentação entre 7-15 °C, as quais floculam no final da fermentação primária ou principal (7 a 10 dias), sendo coletadas na base do fermentador. As leveduras de alta fermentação, usadas para a produção das cervejas *ale*, fermentam com temperaturas entre 18 e 22 °C. No final da fermentação (3 a 5 dias), as células adsorvidas nas bolhas de CO₂, são carregadas até a superfície do mosto onde são coletadas. A diferença entre *lager* e *ale*, baseada em leveduras de fundo ou de superfície, tem se tornado menos usual com a utilização dos fermentadores cilindro-cônicos e das centrífugas. A Figura 5 mostra um esquema genérico dos principais processos de produção de cerveja em função da levedura utilizada.

Saccharomyces uvarum (Lager)



Saccharomyces cerevisiae (Ale)

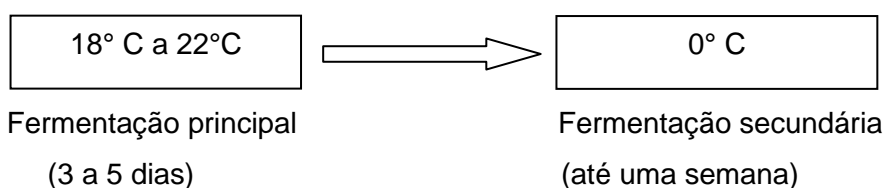


FIGURA 5 - Tempo de fermentação dos tipos *lager* e *ale* de cervejas

Fonte: Russel (1994).

2.3.2 Carboidratos de reserva presentes na levedura

As células de leveduras produzem dois carboidratos de reserva, glicogênio e trealose. Ambos são acumulados pela levedura ao final da fermentação. Glicogênio é uma

molécula multi-ramificada consistindo de numerosas cadeias de resíduos de D-glicose unidos por ligações α -(1,6). A trealose é um dissacarídeo que consiste de dois resíduos de D-glicose ligados por meio de átomos de carbono redutores. O glicogênio serve como uma reserva bioquímica de energia e carbono para suprir a célula durante o estágio aeróbico da fermentação quando os lipídios estão sendo sintetizados. À medida que os constituintes do mosto vão sendo absorvidos pelas leveduras, o nível de glicogênio das células aumenta até alcançar o máximo e, então, diminui levemente no final da fermentação. Idealmente, o conteúdo de glicogênio na levedura a ser inoculada deveria ser alto (DRAGONE *et al.*, 2010). Como o glicogênio é rapidamente consumido durante o armazenamento, é importante que a levedura seja preferencialmente reutilizada após 24 a 48 horas de sua coleta, sendo que a velocidade de consumo de glicogênio é dependente de um número de fatores incluindo a linhagem de levedura e as condições de utilização. Os procedimentos de manipulação da levedura sobre o desenvolvimento do *flavor* da cerveja durante a fermentação provocam baixos níveis de glicogênio nas células, resultante de efeitos, tais como altas temperaturas e tempos excessivos de armazenagem. Isso influi na viabilidade celular, nos tempos de fermentação e nos níveis de diacetil, acetaldeído e dióxido de enxofre ao final da fermentação (DRAGONE *et al.*, 2010). Quando as células de *Saccharomyces cerevisiae* encontram-se sob condições nutricionais baixas, produzem ATP pelo catabolismo de trealose que envolve a ação da enzima trealase para a obtenção de glicose. A trealose garante a viabilidade da levedura durante a germinação, ausência de nutrientes e desidratação protegendo a membrana plasmática contra autólise (MORADO, 2009).

2.3.3 Contaminantes Microbianos no Processo Cervejeiro

2.3.3.1 Bactérias contaminantes

Bactérias são agentes deterioradores comuns da cerveja. As bactérias Gram-positivas, que trazem os maiores problemas para a cerveja, são as bactérias lácticas pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Pediococcus*, sendo que pelo menos 10 espécies de lactobacilos podem causar danos a este produto. Os lactobacilos cervejeiros são heterofermentativos (fermentação da glicose resulta em vários produtos como ácido láctico, oxalacético e fórmico) e homofermentativos (fermentação da glicose resulta apenas em ácido láctico) e produzem ácido láctico e acético, dióxido de carbono, etanol e glicerol como produtos finais, com algumas espécies produzindo também diacetil. Os *Pediococos* são homofermentativos e possuem seis espécies identificadas, mas a espécie predominante encontrada na cerveja é *Pediococcus damnosus*, sendo sua infecção caracterizada pela formação de ácido láctico e

diacetil. Entre as bactérias Gram-negativas que causam danos à cerveja incluem-se as bactérias acéticas (*Acetobacter* e *Gluconobacter*), e certos membros da família das enterobactérias (*Escherichia*, *Aerobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter* e *Obesumbacterium*), como também *Zymomonas*, *Pectinatus* e *Megasphaera* (ALMEIDA E SILVA, 2005).

2.3.3.2. Leveduras selvagens

Levedura selvagem é qualquer levedura diferente da levedura de cultivo utilizada na elaboração de determinada cerveja. Leveduras selvagens podem ser originadas de diferentes fontes. Estudos com 120 leveduras selvagens isoladas a partir da cerveja, leveduras em propagação e garrafas vazias, mostram que, além de várias espécies de *Saccharomyces*, foram encontradas espécies dos gêneros *Brettanomyces*, *Candida*, *Debaryomyces*, *Hansenula*, *Kloeckera*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Torulaspota* e *Zygosaccharomyces* (ALMEIDA e SILVA, 2005). Cerca de 80% das leveduras selvagens são pertencentes ao gênero *Saccharomyces*. Assim *S. diastaticus* (= *S. cerevisiae*) ataca a cerveja envasada, mas não pasteurizada (chopp), produzindo turbidez, super atenuação e sabor desagradável. A fermentação contaminada com *S. cerevisiae* var. *ellipsoideus* resulta em cerveja com sabor fenólico. Linhagens deficientes respiratórias de *S. cerevisiae* podem se desenvolver ao lado da cultura industrial e produzir, na cerveja, odor e sabor anormais, dentre eles o diacetil (VENTURINI FILHO e CEREDA, 2001). As leveduras selvagens podem causar defeitos, como é o caso da formação de película na superfície da cerveja, produção de turbidez, desenvolvimentos de odor e sabor estranhos e fermentação lenta (VENTURINI FILHO; CEREDA, 2001; ALMEIDA E SILVA, 2005).

Segundo Venturini Filho e Cereda (2001), em fermentações contínuas, têm-se observado a presença de leveduras produtoras de micocinas (toxinas "Killer"). Essas linhagens produzem uma proteína letal para as leveduras (sensíveis) de cultivo. A manutenção do pH baixo, indefinidamente, durante a fermentação contínua, propicia o crescimento de linhagens selvagens, que pode eliminar completamente a levedura iniciadora do processo e produzir sabor desagradável (DRAGONE *et al.*, 2010).

As leveduras selvagens podem ser detectadas por exame microscópico, por provas de resistência térmica, esporulação, fermentação de açúcar, sorológicas etc. No mais, a eliminação da levedura selvagem ou a manutenção da sua concentração em níveis mínimos na cervejaria, pode ser conseguida utilizando inóculo da cultura iniciadora em condições assépticas, o que é possível quando se faz propagação da cultura em laboratório a cada um ou dois meses (VENTURINI FILHO; CEREDA, 2001).

2.4 PROCESSO FERMENTATIVO

O processo fermentativo consiste no ponto central para a produção de qualquer bebida alcoólica, possuindo como principal objetivo a conversão de açúcares em etanol e gás carbônico pela levedura, sob condições anaeróbicas. As fermentações são iniciadas utilizando culturas de leveduras renovadas após certo número de ciclos fermentativos; entre os ciclos, as células são tratadas com soluções ácidas eliminando possíveis contaminantes (DRAGONE *et al.*, 2010).

Segundo Venturini Filho e Cereda (2001), no início da fermentação alcoólica a quantidade de leveduras a ser utilizada deve ser tal que resulte numa concentração de 5 a 15 milhões de células de levedura por mililitro de mosto. Embora as circunstâncias variem de mostos para mostos e de linhagens para linhagens, uma fermentação requererá 1 ppm de oxigênio dissolvido e 10^6 cel/mL por cada 1°P (plato – unidade de medida da concentração do mosto) de extrato no mosto (ALMEIDA e SILVA, 2005).

De acordo com Munroe (1994), o oxigênio é utilizado pela levedura para produzir esteróis e ácidos carboxílicos insaturados, que são essenciais para a síntese da membrana celular. Sem o oxigênio inicial, o crescimento celular fica restrito causando fermentação anormal e mudanças no sabor da cerveja. O oxigênio é consumido pela levedura geralmente em poucas horas e, como os açúcares do mosto não são consumidos no início da fase lag, o glicogênio é a principal fonte de energia para atividade celular.

O metabolismo da levedura cervejeira pode ser dividido em anabolismo – quando as reações de síntese de material celular acontecem à custa da energia armazenada na molécula de ATP – e catabolismo – as moléculas são quebradas e oxidadas e a energia fica acumulada nas moléculas de ATP.

A transformação da glicose em etanol e gás carbônico envolve doze reações que são catalisadas por enzimas específicas (FIG.6). A fermentação alcoólica se processa no citoplasma celular, pois é nessa região que se encontra todo aparato enzimático. As enzimas glicolíticas sofrem ações de diversos fatores (pH, temperatura, nutrientes, etc.) que podem estimular ou reprimir a ação enzimática, afetando dessa forma o desempenho do processo fermentativo conduzido pelas leveduras (LIMA *et al.*, 2001).

utilização dos açúcares fermentescíveis pela levedura pode ser a passagem intacta do açúcar pela membrana celular ou a hidrólise fora da membrana celular, seguida pela entrada na célula de alguns produtos da hidrólise. A maltose e a maltodriose passa direto pela membrana, enquanto a sacarose é hidrolisada por uma enzima no meio extracelular, e seus produtos (glicose e frutose) são metabolizados pela célula (ALMEIDA e SILVA, 2005). Em situação normal as leveduras cervejeiras são capazes de utilizar glicose, frutose, maltose e maltotriose respectivamente, sendo que, as dextrinas são utilizadas somente por *S. diastaticus* (uma variedade de *S. cerevisiae*) (RUSSEL, 1994).

A respiração e a fermentação em células de leveduras são reguladas principalmente pela disponibilidade de glicose e oxigênio. A repressão catabólica ou efeito *Crabtree* ocorre em presença de glicose e em condições estritamente aeróbias (metabolismo do tipo respiratório), esse mecanismo ocorre principalmente pelo forte efeito repressivo da glicose sobre atividades de enzimas respiratórias e também pela inibição da expressão genética da via respiratória; Como o piruvato não pode ser oxidado pelo ciclo de Krebs no processo fermentativo, ele é reduzido a etanol (BAKKER *et al.*, 2001).

O efeito *Pasteur* ocorre em baixas concentrações de glicose e em condições de nutriente limitantes. A principal diferença entre o efeito *Crabtree* e o *Pasteur* é que, no efeito *Crabtree* observa-se a tendência da levedura respirar em meios anaeróbios e no *Pasteur* a levedura pode fermentar em presença de oxigênio. Em condições elevadas, a glicose e a frutose reprimem a respiração da levedura alcoólica, desse modo apenas será possível a respiração na presença de oxigênio e em baixa concentração de açúcar (VENTURINE FILHO e CEREDA, 2001).

Ao metabolizar anaerobicamente o açúcar, o principal objetivo da levedura é gerar ATP, que será empregado na realização de trabalhos fisiológicos e biossíntese. O etanol e o gás carbônico são considerados produtos de excreção sem utilidade metabólica para a célula em anaerobiose. Entretanto, o etanol pode ser oxidado metabolicamente gerando mais ATP e biomassa, mais apenas em condições de aerobiose. Na seqüência das reações enzimáticas de ATP aparecem rotas metabólicas alternativas propiciando à formação de materiais necessários a constituição da biomassa, e formação de outros produtos de interesse metabólico. O metabolismo anaeróbico juntamente com o etanol e o gás carbônico permite a formação e a excreção de glicerol, ácidos orgânicos, álcoois superiores, acetaldeído, acetoina, butilenoglicol, entre outros. Simultaneamente ocorre a formação de biomassa (WALKER, 2000; LIMA *et al.*, 2001).

O glicerol é o mais abundante dos compostos orgânicos secundários da fermentação e sua formação está ligada a manutenção do equilíbrio redox celular, a resposta ao estresse osmótico e a concentrações elevadas de açúcares ou de sais no mosto (WALKER, 2000; LIMA *et al.*, 2001).

Problemas relacionados à viabilidade celular têm sido encontrados em mostos cervejeiros com concentrações de sólidos solúveis acima de 18%, além da fermentação lenta e incompleta, a alta pressão osmótica e a toxicidade do etanol são relacionados como fatores limitantes. Dragone *et al.* (2003) verificaram experimentalmente que um aumento na concentração do mosto cervejeiro de 15 para 20 °P resultou na diminuição da produtividade em etanol em 0,08 g.l⁻¹.h⁻¹. Segundo Vanderhaegen *et al.* (2006), as leveduras produzem também sulfito em uma quantidade que geralmente está relacionada com o total de açúcares fermentescíveis no mosto. Cervejas produzidas com a fermentação do mosto a cerca de 12 °P contêm menos que 10 mg/L de sulfito. Em contrapartida, cervejas elaboradas com a fermentação do mosto acima de 12°P podem conter sulfito em níveis acima de 10 mg/L. Estes autores também afirmam que mostos com a mesma concentração de sólidos solúveis, mas com alteração na proporção entre os tipos de carboidratos, podem produzir cervejas com diferentes quantidades de sulfito. Usando diferentes mostos elaborados com 65% de malte e 35% de vários tipos de adjuntos, mostraram que um aumento na quantidade de substrato fermentescível aumenta expressivamente a quantidade de SO₂ final (VANDERHAEGEN *et al.*;2006).

Ainda são discutíveis as razões fisiológicas que levam a levedura a produzir e excretar o ácido succínico. Este produto secundário é o segundo mais abundante na fermentação alcoólica e admite-se que sua formação se deve a um meio fermentativo inadequado. Como não há evidências de necessidades metabólicas desse ácido para a levedura observa-se que sua formação e excreção conferem as leveduras maior competitividade com as bactérias contaminantes. Este ácido juntamente com o etanol exerceria uma atividade antibacteriana (LIMA *et al.*, 2001).

Quantidades significativas de acetaldeído passam para o mosto fermentado e são reabsorvidas. Este produto secundário e o precursor imediato da síntese do etanol, e em grandes quantidades proporcionam o flavor de amônia na cerveja. O aumento do teor de acetaldeído pode ser ocasionado pela fermentação em alta temperatura e pela super dosagem de fermento na cerveja (AZEREDO, 1999).

Em grandes cervejarias, o gás carbônico gerado na fermentação é recuperado, purificado em instalações especiais e reutilizado em diversas fases do processo, como, por

exemplo, na correção de carbonatação da cerveja, ou no enchimento de barris e garrafas. O excedente costuma ser vendido para microcervejarias que não possuem plantas de recuperações de CO₂, ou utilizado na produção de refrigerantes, nos casos de fábricas e conjuntas. O cuidado microbiológico na fermentação deve ser redobrado, para evitar aromas indesejáveis provenientes de contaminação microbiológica.

Logo após a retirada das leveduras, tem se inicio o processo de maturação, que ocorre em temperaturas inferiores às da fermentação. Durante essa fase acontecem reações físico-químicas que transformam o aspecto visual e produzem alguns aromas e sabores. Essa etapa é considerada como “afinamento” da cerveja.

A maturação quando se inicia a maior parte dos açúcares já foi metabolizado e transformado em álcool etílico, dióxido de carbono, glicerol, ácido acético, alcoóis superiores e ésteres. É nessa etapa que ocorre a carbonatação natural da bebida, como efeito da contrapressão exercida no próprio taque de maturação pelo gás carbônico produzido na fermentação do extrato que resta.

A precipitação das leveduras e a formação, a baixa temperatura, de complexos de proteínas e polifenóis, ajudam na clarificação da cerveja (Tab.4).

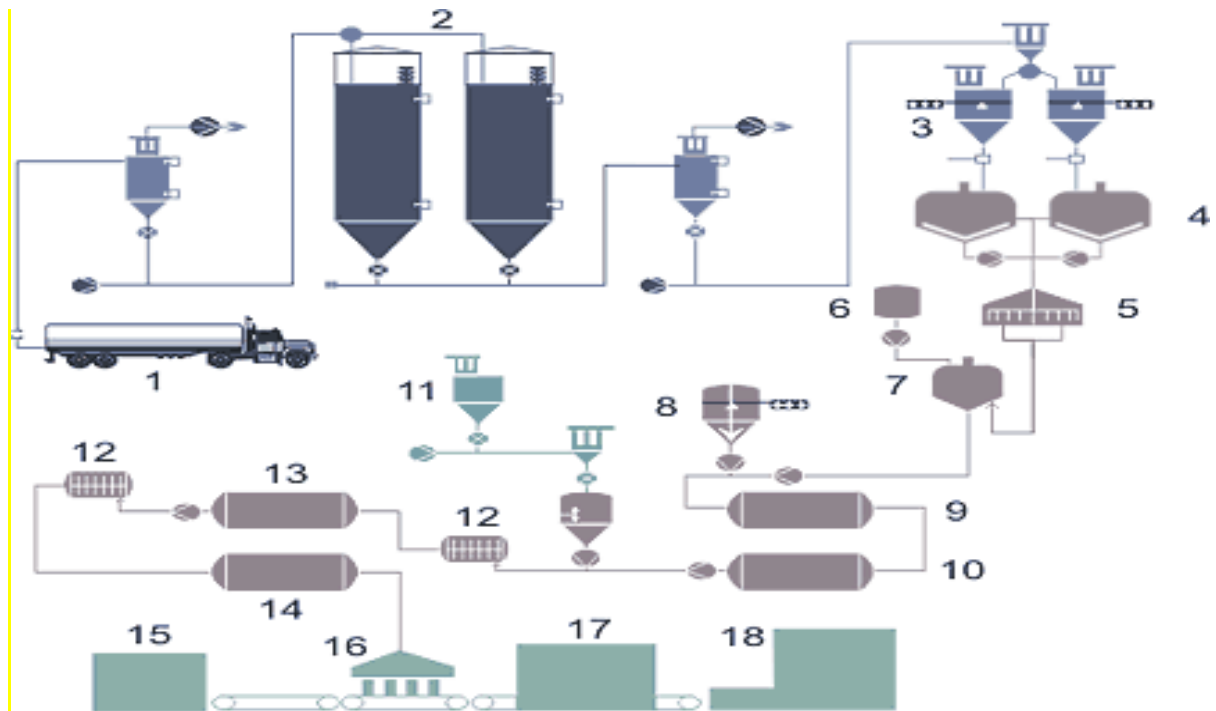
TABELA 4
Características dos tipos de cerveja

Cerveja	Origem	Coloração	Teor alcoólico	Fermentação
Pilsen	Republica Tcheca	Clara	Médio	Baixa
Export	Alemanha	Clara	Médio	Baixa
Lager	Alemanha	Clara	Médio	Baixa
Dortmunder	Alemanha	Clara	Médio	Baixa/Alta
Munchen	Alemanha	Escura	Médio	Baixa
Bock	Alemanha	Escura	Alto	Baixa
Malzbier	Alemanha	Escura	Alto	Baixa
Ale	Inglaterra	Dourada	Médio/Alto	Alta
Stout	Inglaterra	Escura	Alto	Geralmente baixa
Porter	Inglaterra	Escura	Alto	Alta ou Baixa
Weissbier	Alemanha	Clara	Médio	Alta
Ice	Canadá	Clara	Alto	-----

Fonte: Sindicerv, 2011.

2.5 Processos de produção da cerveja

No fluxograma abaixo, está representado uma visão geral do processo de obtenção de cervejas. Embora todas as cervejas de mesma classificação são produzidas utilizando basicamente o mesmo processo, elas podem apresentar algumas variações de marca para marca.



- **Recebimento e Armazenagem do Malte :** O malte é recebido à granel a partir de caminhões (1) e armazenado em silos (2).
- **Moagem do Malte :** O malte é enviado para os moinhos(3) que possuem como função promover um corte na casca e então liberar o amido para o processo. A moagem também promove a diminuição do tamanho da partícula do amido, aumentando assim, ocasionando um aumento na velocidade de hidrólise do amido.
- **Mosturação :** Após ser moído o malte é enviado até os tanques de mostura (4). O malte moído é misturado com água e submetido a aquecimento. É importante que a temperatura não ultrapasse 72°C, pois em altas temperaturas as enzimas são inativadas. As enzimas contidas no malte são liberadas para o meio e sob ação de calor são ativadas para promover a hidrólise catalítica do amido.

- Filtração :A mistura obtida, também chamada de mostura, atravessa um sistema de filtros (5) que tem por função separar a casca da mistura. Na torta formada ainda existem frações de açúcares que poderão ser utilizados na fermentação. Após filtrada, a mostura passa a denominar-se mosto.
- Fervura : Em seguida o mosto é adicionado a um tanque (7) e recebe a adição de lúpulo (6). A mistura é fervida por volta de 30min e, durante esse intervalo, ocorre a extração e isomerização de alguns óleos essenciais extraídos do lúpulo.
- Resfriamento : Após o processo de fervura, o mosto acrescido de lúpulo é resfriado por trocadores de calor, com o objetivo de receber a levedura (8) que irá promover a fermentação.
- Fermentação : Fase em que as leveduras irão consumir os açúcares fermentescíveis, se reproduzir e produzir álcool e dióxido de carbono além de alguns ésteres, ácidos e alcoóis superiores que irão transmitir propriedades organolépticas à cerveja. A fermentação ocorre em tanques fechados, revestidos por uma camisa externa que permite a passagem de fluido refrigerante (amônia ou etileno glicol) para manter o sistema na temperatura desejada, que pode variar de 10 a 25°C de modo geral.
- Maturação : Terminada a fermentação, a cerveja obtida do fermentador, também chamada de cerveja verde, é enviada aos tanques de maturação (10) onde é mantida por períodos variáveis a temperaturas de aproximadamente 0°C. É nessa fase que ocorre a sedimentação de partículas em suspensão e desencadeiam reações de esterificação que irão produzir aromatizantes essenciais para cerveja.
- Segunda Filtração : Nessa etapa (12), é acrescido terra diatomácea (11) a cerveja madura, com o objetivo de remover as partículas em suspensão e adsorver as substâncias que conferem cor desagradável para a cerveja.
- Acabamento : Após a segunda filtração, a cerveja passa por uma fase de acabamento (13) onde irá receber dióxido de carbono e outras substâncias que irão garantir a qualidade da cerveja e aumentar seu tempo de prateleira, como estabilizantes e antioxidantes.
- Engarrafamento : Nessa etapa, a cerveja acabada (14) é enviada para a engarrafadora (16) que recebe as garrafas limpas (15) com solução de hidróxido de sódio;

- Pasteurização : O objetivo da pasteurização (17) é eliminar alguns microorganismos que irão prejudicar as características originais da cerveja. Costuma ser realizada a temperaturas por volta de 70°C, de modo que essa seja a temperatura letal dos microorganismos em questão.
- Expedição : Após pasteurizada, a cerveja é encaminhada para a fase de expedição (18) para ser comercializada.

2.6 Melhoramento genético e molecular das leveduras

Avanços importantes foram atingidos usando a tecnologia de DNA recombinante, essa técnica tem como objetivo melhorar as características das leveduras cervejeiras. Estratégias de transformação têm aberto a possibilidade do uso de leveduras cervejeiras que: fermentam uma ampla variedade de açúcares; floculam apropriadamente e em tempos curtos da fermentação; toleram melhor o stress químico e físico causado pela fermentação e produz cerveja mais estável e saborosa

Os benefícios das leveduras recombinantes na indústria são relacionados a: diminuição de custo da matéria-prima; aumento na eficiência e produtividade da fermentação; melhoria na qualidade da cerveja e desenvolvimento de “novas” cervejas. A tabela 5 destaca algumas das melhorias no processo cervejeiro utilizando-se leveduras recombinantes.

De acordo com alguns autores as leveduras geneticamente modificadas têm sido desenvolvidas com a finalidade de manter a concentração de diacetil em valores inferiores ao limiar de detecção sensorial, facilitar a filtração da cerveja e produzir cervejas com baixos teores de carboidratos.

Alguns fatores impedem o uso da tecnologia do DNA recombinante, entre eles: a duvidosa e demorada aprovação do governo para seu uso; disponibilidade de soluções alternativas aplicações de patente e a preocupação pela aprovação do consumidor.

Reino Unido, uma levedura cervejeira recombinante foi aprovada para uso comercial, mas ainda tem que receber a aprovação do mercado industrial mundial. Mesmo sendo os obstáculos científicos e técnicos superados, considera-se a aceitação do consumidor o obstáculo mais desafiante.

TABELA 5

Aspectos que relacionam às aplicações práticas e potencial da levedura cervejeira recombinante

Limitações atuais da espécie	da	Propriedades desejáveis da cepa	Melhorias usando a tecnologia de DNA recombinante
Tolerância etanol	limitada ao	Tolerância mais elevada ao etanol para a fermentação do mosto de alta densidade.	Transferência do gene acetoacetil- CoA tiolase para levedura poder aumentar a tolerância ao etanol mas este traço é difícil de conferir devido a sua natureza poligênica.
Limite estreito de fermentação carboidratos	para de	Utilização e fermentação das maltodextrinas para produzir a cerveja light (de baixo teor de carboidratos)	Conseguido por transferência de genes da glucoamilase da <i>S.cerevisiae var. diastaticus</i> ou de <i>Aspergillus ssp.</i>
Suscetível a contaminação		Propriedades antimicrobianas (junto a leveduras e bactérias selvagens) de modo que as cepas produtoras de cerveja pudessem agir esterilizando as fermentações contaminadas	Plasmídios de toxinas assassinas (assasinas de laboratório) transferidas pela citodução ou eletrotransformação para cepas cervejeiras. Assassinas floculantes encontram-se também disponíveis através da fusão de protoplasto.

Limite de tolerância ao stress Osmo-, thermo-e Barotolerancia requererem célula causada por níveis acima daqueles nutrientes e por condições encontrados na produção de físicas são mais prováveis cerveja acontecer do que por tecnologia de clonagem.

Nenhuma hidrolise do β – glucan A degradação do β -glucan viscoso que deriva do malte cevada é esperada para melhorar a filtração do mosto e eliminar a turbidez da cerveja Os genes da β -Glucanase tem sido sucessivamente clonada de bactéria, fungo e cevada pra dentro da levedura cervejeira.

Hidrolise limitada de proteína Proteolises para melhorar o mosto utilizando o nitrogênio e evitando a turbidez da cerveja *S. cerevisiae* foi transformada para incorporar com sucesso uma protease.

A cerveja produzida requer longa maturação Os níveis reduzidos, ou o metabolismo de off-flavour (ex. diacetil e H₂S) que são indesejados, resultando num tempo reduzido de maturação Os genes que codificam enzimas da via sintética da valina (que pode causar o aumento de diacetil) foram clonados de vários microrganismos dentro de leveduras cervejeiras. A produção reduzida do H₂S também é possível por transferência de genes na síntese da cistationina.

Floculação descontrolada	Corrige a temporização da floculação da levedura para atender o processo de purificação da cerveja	Os genes da floculação (ex. FLO1) foram clonados na reprodução da levedura e apenas expressados no final da fermentação
Síntese limitada dos ésteres	Determinados ésteres fornecem os estabilizantes e os antioxidantes desejáveis ao flavour	O gene codificado do álcool acetil transferase (AFTI) é responsável pela síntese do éster do acetato clonado em uma espécie de <i>S.cereviase</i> .
Instabilidade do flavour da cerveja produzida	O aumento da produção de SO ₂ age comoo estabilizante e o antioxidante do flavour	Os genes do sulfito redutase foram suprimidos tendo por resultado os níveis SO ₂ aumentados na cerveja.
Utilização da maltose reprimida	A anulação da glicose de repressão melhoraria a fermentação e permitiria maior uso dos adjuntos baseados na glicose	Transferência de genes da maltose permease (MAL61) resulta na melhoria do uso da maltose.

Fonte: Walker, 2000

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O presente trabalho visa apresentar as leveduras do gênero *Saccharomyces* responsáveis, na cervejaria, pela fermentação alcoólica.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar a diferença de metabolismo de cada linhagem;
- Identificar as diferenças entre a cerveja *ale* e *lager*;
- Identificar os diferentes processos de fabricação da cerveja;
- Compreender o processo de fermentação alcoólica.

4 METODOLOGIA

A metodologia adotada para o desenvolvimento desse trabalho foi a revisão bibliográfica de artigos científicos encontrados em revistas, jornais e sites de caráter científico.

5 RESULTADOS

Até o presente momento foram encontradas apenas duas espécies do gênero *Saccharomyces* que são capazes de produzir etanol e dióxido de carbono, a espécie *S. uvarum* (*carlsbergensis*) e a espécie *S. cerevisiae*.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Acredita-se que a cerveja, uma das principais bebidas alcoólicas consumidas no mundo, originou-se no Egito a 6.000 a.C pelo crescimento em estado selvagem da cevada nessa região, desde então a bebida vem-se aprimorando cada vez mais.

Das matérias primas utilizadas para fabricação da cerveja, a água é a principal e esta deve ser potável e observada características físicas e químicas, como p.H, cor, turbidez, entre outras. O cereal mais utilizado é a cevada, por ser rica em amido e proteína. O lúpulo também é uma matéria prima importante na fabricação da bebida pois é dele que vem o sabor amargo típico da cerveja além de contribuir com o aroma. Outras substâncias como estabilizantes, antioxidantes, acidulantes também são utilizadas na fabricação.

As leveduras utilizadas para fermentação é que determinam o aroma final do produto, e a cultura dessas deve ser pura e sem contaminantes. As leveduras mais utilizadas são *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces uvarum*. O conhecimento do metabolismo dessas leveduras no decorrer da fermentação é primordial para o pesquisador cervejeiro na elaboração de estratégias de controle e aperfeiçoamento do processo de fabricação da bebida. O sabor do produto obtido difere de uma levedura para outra, em função de pequenas diferenças bioquímicas e de metabolismo. Isto influencia na formação de substâncias capazes de conferir aroma e sabor diferentes, caracterizando os variados tipos de cerveja.

Sendo assim, pode-se concluir que o sabor e qualidade final da cerveja serão determinados pelo tipo de processo, pela levedura utilizada e pelos compostos produzidos durante a fermentação e maturação que exercem maior impacto nas características sensoriais da bebida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA E SILVA, JB. *Cerveja*. In: Venturini Filho, G. W. *Tecnologia de Bebidas*. Edgar Blucher, Brasil, 2005, p.347-380.

AMBEV. Disponível em: <<http://www.ambev.com.br/produtos/cervejas>>. Acesso em 15 de agosto de 2011.

ANDRIETTA, S. R.; MIGLIARI, P. C.; ANDRIETTA, M. G. S. *Classificação das cepas de levedura de processos industriais de fermentação alcoólica utilizando capacidade fermentativa*. STAB: Açúcar, Álcool e Subprodutos, v. 17, n. 5, p. 54-59, 1999.

AQUARONE, E., et al. *Alimentos e bebidas produzidos por fermentação*. 4.ed. São Paulo : Edgard Blücher, 1993, 243p.

ARAÚJO, F. B.; SILVA, P. H. A.; MINIM, V. P. R. *Perfil sensorial e composição físico química de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado brasileiro*. Ciências e Tecnologia de Alimentos, v.23, n.2, p. 121-128, 2003.

AZEREDO, DRP. *Síntese e Degradação de Glicogênio e Viabilidade de Levedura Cervejeira*. 1999. 103f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999.

BAKKER, B.M.; OVERKAMP, K.M; VAN MARIS, A.J.; KOTTER, P.; LUTTIK, M.A.; VANDIJKEN, J.P.; PRONK, J.T. *Stoichiometry and compartmentation of NADH metabolism in Saccharomyces cerevisiae*. FEMS Microbiol. Rev. v.25, p. 15-37, 2001.

CARVALHO, G.B.M., ROSSI, A.A., ALMEIDA e SILVA, J.B. *Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 2ª. parte, A fermentação*. Revista Analytica, v.26, p.46 - 54, 2007.

CARVALHO, G.B.M., BENTO, C.V., ALMEIDA e SILVA, J.B. *Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 1ª. Parte- As leveduras*. Revista Analytica, v.25, p.36 - 42, 2006.

CARVALHO, GBM; DRAGONE, G; BENTO, CV; SANTOS, DT; SARROUH, BF; FELIPE, MGA; ALMEIDA E SILVA, JB. *Utilização da banana como adjunto na obtenção de mosto cervejeiro de alta densidade: um estudo para fim biotecnológico clássico inédito*. In: Congresso Mineiro de Propriedade Intelectual, Agosto 9-11, UFJF, Juiz de Fora - MG, 2006.

CASEY, G. P.; MAGNUS, C. A.; INGLEDEW, W. M. *Hight gravity brewing: effects of nutrition on yeast composition, fermentative ability, and alcohol production*. Applied and Environmental Microbiology, Washington, DC, v.48, n.3, p. 639-646, 1984.

CERVEJA ARTESANAL. Disponível em: <<http://www.cervejaartesal.com.br>>. Acesso em 10 de agosto de 2011.

CERVESIA. *Tecnologia Cervejeira*. Disponível em: <<http://www.cervesia.com.br>>. Acesso em: 20/01/2011.

DRAGONE, G. ALMEIDA e SILVA, J.B. In: VENTURINI FILHO, W.G. *Bebidas Alcoólicas: Ciências e tecnologia*. V.1. São Paulo: Edgard Blücher, 2010

DRAGONE, G; SILVA, DP; ALMEIDA E SILVA, JB. *Influência da Concentração do Mosto na Produção em Escala Piloto de Cervejas pelo Processo "High Gravity"*. Engarrafador Moderno. p. 30-35, 2003.

DRAGONE, G; SILVA, DP; ALMEIDA E SILVA, JB; LIMA, UA. *Improvement of the ethanol productivity in a high gravity brewing at pilot plant scale*. Biotechnology Letters, v.25, p. 1171-1174, 2003.

EHRHARDT, P.; SASSEN, H. *Fermentação*. Vassouras: Senai – DR/RJ, 1995. 37p.

KUNZE, W. *Technology, brewing and malting*. Berlin: VLB, 1996. 726p.

EMBRAPA. Disponível em : <<http://www.embrapa.br>>. Acesso em 14 de dezembro de 2010.

HARDWICK, W. A. *Handbook of brewing*. New York: Macel Dekker, 1994. 714p.

JIN, Y.L.; SPERRS, R.A. *Flocculation of Saccharomyces cerevisiae*. Food Res. Intern. Ed. 31. P. 421-440. 1998.

LIBKIND, D.; *et al. Microbe domestication and the identification of the wild genetic stock of lager-brewing yeast*. PNAS, v.108, n. 35, p. 14539-14544, 2011.

LIMA, U. de A; BASSO, LC; AMORIM, HV. *Produção de Etanol*. In: Almeida Lima, U., Aquarone, E., Borzani, W., Schmidell, W. *Biocologia Industrial (Processos Fermentativos e Enzimáticos)* v.3, p. 01-43. São Paulo: Edgar Blücher, 2001.

MADRID, A., *et. al. Manual de Indústrias de alimentos*. 1.ed. São Paulo: Varela, 1996, 599p.

MORADO, RONALDO;. *Larousse da cerveja*. 1.ed. São Paulo: Larousse, 2009, 357p.

MUNROE, JH. *Fermentation*. In: HARDWICK, W.A. *Handbook of Brewing*. New York: Marcel Dekker, 1994. p.323-353.

NAKANO, VALÉRIA MITIKO. *Teoria da Fermentação e Maturação*. In: WORKSHOP ADEGAS, 1, 2000, Brasília. Anais. Brasília: AMBEV, 2000. 96p

R.REINOLD, M. *Manual Prático de Cervejaria*. 1.ed. São Paulo : Aden, 1997. 213p.

RUSSELL, I. Yeast In: HARDWICK, W.A. *Handbook of Brewing*. New York: Marcel Dekker, 1994. p.169-202.

SAUDE VIDA. Disponível em: <<http://www.saudevidaonline.com.br/alcool.htm>>. Acesso em: 15 de agosto de 2011.

SCHINCARIOL. Disponível em: <<http://www.schincariol.com.br>>. Acesso em 15 de agosto de 2011.

SINDICERV. Disponível em: <<http://www.sindicerv.com.br>>. Acesso em: 10 de agosto de 2011.

STEWART, G. G.; RUSSELL, I. An introduction to brewing science & technology: series III: brewer's yeast. London: Institute of Brewing, 1998. 108p.

TIPOS DE CERVEJAS. Disponível em: <<http://www.montana.com.br>>. Acesso em: 5 janeiro de 2011.

VANDERHAEGEN, B. et al. *The chemistry of beer aging – a critical review*. Food Chem., v. 95, p. 357-381, 2006.

VANDERHAEGEN, B; DELVAUX, F; DAENEN, L; VERACHTERT, H; DELVAUX, FR. *Aging Characteristics of Different Beer Types*. Food Chemistry, 2006.

VARNAM, A.H.; SUTHERLAND, J.P. *Beverages technology Chemistry and microbiology*. London: Chapman &Hall. 1994, 464p.

VAUGHAN-MARTINI, A.; MARTINI, A. *A taxonomic key for the genus Saccharomyces*. Systematic and Applied Microbiology, v. 16, n. 1, p. 113-119, 1993.

VENTURINI FILHO, W. G. *Tecnologia de cerveja*. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 83p.

VENTURINI FILHO, WG; CEREDA, MP. *Cerveja*. In: Almeida lima,U., Aquarone, E., Borzani, W., Schmidell, W. Biotecnologia Industrial (Biotecnologia na produção de alimentos). São Paulo: Edgar Blucher, v.1. p. 91-144, 2001.

WALKER, GM. *Yeast Technology*. In: *Yeast Physiology and Biotechnology*. Scotland:John Wiley & Sons. p. 265-320, 2000.