

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**VINÍCIUS MARTINS DE MELO**

***Saccharomyces*, principais parâmetros e sua importância no ambiente cervejeiro**

**PATOS DE MINAS – MG  
MAIO 2023**

**VINÍCIUS MARTINS DE MELO**

***Saccharomyces*, principais parâmetros e sua importância no ambiente cervejeiro**

Monografia apresentada ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

**Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Líbia Diniz Santos**

**PATOS DE MINAS – MG**

**MAIO 2023**

## VINÍCIUS MARTINS DE MELO

### ***Saccharomyces*, principais parâmetros e sua importância no ambiente cervejeiro**

Monografia apresentada ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

#### **Banca examinadora:**

Dra. Líbia Diniz Santos FEQUI/UFU

Presidente

Dr. Marcos de Souza Gomes IQUFU/UFU

Membro

Dra. Lívia Carneiro Fidélis Silva FEQUI/UFU

Membro

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de Defesa que se encontra no Sistema Eletrônico de Informações (SEI) da Universidade Federal de Uberlândia.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, a meu Pai, Waltoir e à minha mãe, Valéria, pelo dom da vida e por todas as oportunidades que propuseram a mim para a conclusão deste trabalho, essa conquista é nossa!

À minha irmã, Júlia, por ser minha inspiração, meu porto seguro e sempre me mostrar o meu valor, te amo mil milhões.

Aos meus avós maternos, José e Laudelina, que não medem esforços para sempre estarem presentes. A vocês todo meu carinho, amor e gratidão.

Aos meus avós paternos, Miguel e Onofra, que não se fazem mais presentes neste plano e que foram minha morada durante os primeiros semestres de faculdade, obrigado por cada oração que proferiram e sei que comemoram comigo esse momento seja de onde estiverem.

À Líbia, minha orientadora, por toda paciência, tempo e sabedoria que me foram ofertados.

Aos integrantes da banca, Marcos e Livia, pela disponibilidade e interesse em meu trabalho.

Aos meus familiares e amigos que sempre me incentivaram ao estudo.

À todas as amizades que construí durante esses anos de UFU por terem vivido momentos incríveis e por me ensinarem cada dia mais o significado da palavra amizade.

À família que formei durante esse período, Flávia e Laura Castro, obrigado por todos os momentos vividos juntos, pelos choros e reclamações ouvidos, pelos risos e pela companhia durante esse tempo.

Aos meus melhores amigos, Eric e Skarllat, que estando perto ou não sempre estiveram juntos comigo, me apoiando e despertando em mim a minha melhor versão.

Às minhas primeiras professoras, Cidinha, Vânia e Abadia, por todo carinho, empenho e dedicação.

A todos os professores dos ensinos fundamental (E. M. Moisés Basílio de Camargos) e médio (CEFET-Araxá e E. Cândia Cortes Corrêa) que me motivaram a ser questionador e mostraram o amor pela educação.

Aos discentes, docentes e à instituição Universidade Federal de Uberlândia, em especial Terezinha, Djenaine e Gilvan por me oferecerem grande troca de conhecimentos e um ensino de qualidade.

A todos vocês, minha eterna gratidão!

## RESUMO

O mercado cervejeiro é responsável por movimentar bilhões de dólares por ano e possui grande importância histórica, cultural e científica. O presente estudo tem como principal objetivo fazer um levantamento bibliográfico sobre o gênero de leveduras *Saccharomyces* e as influências de variáveis como temperatura, pH e aeração na produção de cerveja. As espécies *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces eubayanus* e *Saccharomyces pastorianus* são as leveduras mais utilizadas no ambiente cervejeiro e possuem grande relevância científica para o meio acadêmico. A partir das informações obtidas ao longo desta pesquisa de caráter exploratório e com resultados tratados de maneira quantitativa e qualitativa, foi possível concluir que os parâmetros avaliados são específicos para as espécies do gênero *Saccharomyces*, afetando as características sensoriais e físico-química da cerveja.

Palavras-chave: Leveduras; Cerveja; Temperatura; pH; Aeração.

## ABSTRACT

*The brew market moves billions of dollars every year and is historically, culturally, and scientifically significant. The main goal of this study is to conduct a literature review on the yeast's genus Saccharomyces and the effects of variables such as temperature, pH, and aeration on beer production. Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces eubayanus, and Saccharomyces pastorianus are the yeasts most used in the brewing environment and have significant scientific relevance. Through the collection of data over an exploratory study and with quantitative and qualitative results, it was possible to conclude that the parameters evaluated are specific to the Saccharomyces genus and affect the sensorial and physico-chemical characteristics of beer.*

*Keywords: Yeast; Beer; Temperature; pH; Aeration.*

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Família <i>Cannabacea</i> .....	18
Figura 2 - Representação esquemática das etapas de produção de cerveja .....	20
Figura 3 - Sequência das reações enzimáticas pela fermentação alcoólica .....	27
Figura 4 - Taxonomia das espécies: <i>S. cerevisiae</i> , <i>S. eubayanus</i> e <i>S. pastorianus</i> , e do gênero <i>Brettanomyces</i> .....	31
Figura 5 - Campanha para divulgação da cerveja H41 da Heineken®. ....	32
Figura 6 - <i>Saccharomyces pastorianus</i> . ....	32
Figura 7 - Representação esquemática da importância da aeração no mosto cervejeiro .....	41

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	10
1.1	Justificativa.....	11
1.2	Objetivo Geral .....	11
1.3	Objetivos específicos.....	11
2	METODOLOGIA .....	12
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	13
3.1	Cerveja.....	13
3.1.1	História.....	14
3.1.2	Matéria-prima.....	16
3.1.2.1	Água.....	16
3.1.2.2	Malte de Cevada .....	17
3.1.2.3	Lúpulo.....	18
3.1.2.4	Microrganismos fermentadores .....	19
3.1.3	Etapas de produção .....	20
3.1.3.1	Moagem .....	21
3.1.3.2	Mosturação .....	22
3.1.3.3	Clarificação.....	23
3.1.3.4	Fervura.....	24
3.1.3.5	Fermentação.....	25
3.1.3.6	Maturação .....	28
3.2	Levedura.....	29
3.2.1	Taxonomia .....	30
3.2.2	O gênero <i>Saccharomyces</i> .....	31
3.2.3	A híbrida natural <i>Saccharomyces pastorianus</i> .....	32
3.2.4	A espécie <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	34
3.2.5	A espécie <i>Saccharomyces eubayanus</i> .....	35

3.3	Parâmetros .....	35
3.3.1	Temperatura .....	35
3.3.2	pH.....	39
3.3.3	Aeração .....	40
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>43</b>
	REFERÊNCIAS.....	44

## 1 INTRODUÇÃO

A cerveja é um dos produtos biotecnológicos mais consumidos e antigos do mundo (CARVALHO, 2017). Existem evidências que a cerveja surgiu no Egito ou no Oriente Médio a partir da fermentação de pães. Silva, Leite e Paula (2016) citam estudos arqueológicos que comprovam a existência de uma bebida produzida a partir de cereais que era usada como salário, remédio e oferecida aos deuses.

Além de sua importância histórica e cultural, a cerveja é alvo de inúmeras pesquisas científicas e seu mercado movimentou bilhões de reais no Brasil. No ano de 2020 o crescimento do setor de cervejaria foi de 14% representando 1,6% do Produto Interno Bruto (PIB) do país (CERVBRASIL, 2020). O crescimento e abertura de novas micro cervejarias são uma realidade mundial demonstrando o apreço dos consumidores em cervejas artesanais com alta qualidade e com atributos sensoriais que diferem das cervejas popularmente consumidas (MORADO, 2017).

A cerveja é uma bebida comumente consumida por lazer e diversão, e seu processo de fabricação é partir da fermentação alcoólica por levedura da água, malte e lúpulo, podendo ser acrescentadas outras matérias primas, para agregar sabor, aroma, textura, cor, entre outros, todos estes parâmetros de produção de cerveja podem alterar suas características sensoriais e físico-químicas (COSTA 2019).

A água compõe grande parte da composição da cerveja, cerca de 90 a 95% do seu total, além disso, está presente em todo o processo produtivo. Pensando nisso, sabe-se que a qualidade da água utilizada no processo produtivo afeta diretamente o produto obtido (AMBEV, 2019).

Tozetto (2017) cita a levedura como um microrganismo eucariótico unicelular, pertencente ao reino Fungi. Desde que tenham as condições metabólicas necessárias, como temperatura, pH e açúcar disponível, esses microrganismos irão metabolizar as matérias-primas em álcool, gás carbônico e energia. Além disso, o tempo e a temperatura de fermentação afetam diretamente as características da cerveja, como aroma, espuma e sabor, e por ser a base dessas características, é muito importante que o inóculo de levedura e o mosto cervejeiro não sejam contaminados por outros microrganismos.

Com o intuito de analisar como esses parâmetros podem afetar a cerveja, a presente revisão bibliográfica teve como objetivo principal abordar e analisar os comportamentos fermentativos de três espécies de leveduras do gênero *Saccharomyces*, destacando a sua importância para a indústria cervejeira. Para isso, foram analisados trabalhos científicos que

estudaram a influência da temperatura, pH e aeração das espécies *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces pastorianus* e *Saccharomyces eubayanus*, no processo de produção da cerveja em fermentações *lager* e *ale* em vários continentes.

### 1.1 Justificativa

*Saccharomyces* é um gênero de leveduras que possui grande foco de pesquisas biotecnológicas e movimenta um grande mercado na produção de etanol, cervejas, vinhos e pães, sendo o fermento biológico mais utilizado na indústria de alimentos. É possível notar que as leveduras do gênero *Saccharomyces* impactam direta ou indiretamente nas indústrias que dependem da fermentação alcoólica, nos avanços em atividades biotecnológicas e no desenvolvimento de pesquisas. O amplo conhecimento das espécies desse gênero, a geração de espécies híbridas, identificação de novas espécies e suas caracterizações, o cultivo de leveduras selvagens e o desenvolvimento técnico científico da fermentação alcoólica podem otimizar o rendimento das fermentações, tornando necessário o estudo e a discussão sobre as leveduras do gênero *Saccharomyces* na produção cervejeira (CARREIRO, 2016).

### 1.2 Objetivo Geral

A presente revisão bibliográfica teve como objetivo principal o estudo das principais leveduras do gênero *Saccharomyces* utilizadas na fermentação alcoólica e quais os impactos dos parâmetros de temperatura, pH e aeração na produção de cerveja.

### 1.3 Objetivos específicos

- Descrever sobre o processo da cerveja contemplando sua história, matéria-prima e etapas de preparo;
- Apresentar os processos bioquímicos da fermentação;
- Descrever o comportamento das leveduras *Saccharomyces*, espécies *S. cerevisiae*, *S. eubayanus* e *S. pastorianus*, no processo fermentativo e caracterizando-as;
- Levantar estudos sobre os parâmetros: temperatura, pH e aeração na produção da cerveja.

## 2 METODOLOGIA

O presente estudo consiste em um levantamento bibliográfico de caráter exploratório, que visa apresentar a utilização das principais espécies do gênero *Saccharomyces* na produção de cerveja. Nesse sentido, os resultados foram apresentados de forma qualitativa e quantitativa, a partir da coleta de informações de sites de busca científica, incluindo livros, artigos publicados entre 1963 e 2022, materiais de cursos de tecnologia cervejeira, e sites governamentais. As bases on-line consultadas foram PubMed, *On line Library*, *Google Acadêmico*, Repositórios USP, UFSCAR, UFPE entre outros, sendo os principais descritores de busca os termos *Saccharomyces*; Temperatura; pH; Aeração.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

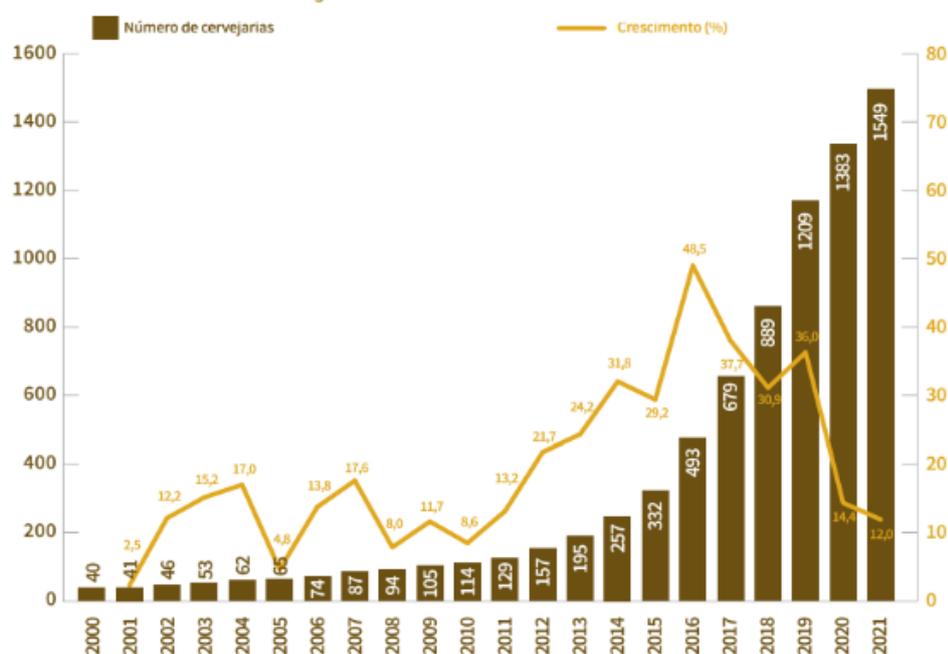
#### 3.1 Cerveja

O mercado cervejeiro é um dos segmentos que mais tiveram alta no Brasil, mesmo tendo altas cargas tributárias, este mercado inova a partir da criação de modelos de negócios diferenciados, a fim de atrair novos apreciadores e difundir a cultura da cerveja (SALVADOR, 2022).

Cerveja é uma das coisas vitais e não tem como não existir cerveja, porque tem sabor, tem diversão e é um motor social, que quando você está com algum problema ou quer comemorar alguma coisa, a cerveja está ligada a esses momentos. A sociedade não vive sem um fermentado ou destilado (SALVADOR, 2022, n.p)

O número de estabelecimentos produtores de cerveja cadastrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) chegou a 1.549 em 2021, um aumento de 12,0% em relação às 1.383 cervejarias cadastradas no ano anterior. Em 2021, houve 200 cervejarias recém-registradas e 34 cervejarias canceladas, um aumento líquido de 166 em relação ao ano anterior (ANUÁRIO, 2022).

Gráfico 1- Crescimento do número de Cervejarias entre os anos de 2000 a 2021



Fonte: ANUÁRIO (2022)

Pode-se observar no Gráfico 1, apresentado no Anuário (2022) a evolução do crescimento do mercado cervejeiro desde o ano 2000 onde apresentava registro de 40 cervejarias até o ano de 2021 que encerrou com o registro de 1549 cervejarias, demonstrando assim um crescimento de 3.872,5% do setor nos últimos 21 anos.

Ainda de acordo com o Anuário (2022) a maioria das cervejarias brasileiras está localizada nas regiões Sul e Sudeste, com 1.329 representando 85,8% de todas as cervejarias. Seguindo a tendência observada nos anos anteriores, São Paulo voltou a liderar com 340 estabelecimentos cadastrados, seguido pelo Rio Grande do Sul com 285 e Santa Catarina ficou em terceiro lugar, pela primeira vez, com 195 cervejarias cadastradas. Os estados com maior crescimento no número de cervejarias em 2021 são Rondônia com 200%, Acre com alta de 100% e Piauí com 66,7%. Apenas dois estados tiveram queda no número de cervejarias em relação a 2020, sendo eles Rio Grande do Norte de 20 para 19 cervejarias, e Amazonas de 5 para 4 cervejarias.

Além de sua enorme importância econômica, vale destacar as suas propriedades nutricionais sendo fonte significativa de vitaminas do complexo B, cálcio e antioxidantes (MORADO, 2017). Komar (2017) cita que estudos realizados na Holanda comprovam que indivíduos que consomem cerveja apresentam níveis de vitamina B6 mais altos que as demais pessoas. Além disso, a cerveja também é composta por vitamina B12, ácido fólico, niacina e riboflavina.

Martinez (2004) cita a cerveja com uma das bebidas de baixo teor alcoólico, e rica em nutrientes que inclui carboidratos, aminoácidos, minerais, vitaminas e compostos fenólicos, para este autor a grande quantidade de flavonoides e silício presentes na cerveja, favorece uma maior formação de massa óssea.

### 3.1.1 História

A produção de cerveja possui registros arqueológicos datados de 6000 anos antes de Cristo encontrados na antiga Mesopotâmia, atual Suméria, demonstrando o que seria a primeira receita cervejeira já descoberta (POELMANS; SWINNEN, 2011), destacando-se a sua grande relevância histórica, sendo uma das mais antigas bebidas produzidas no mundo (REBELLO, 2009). Após indícios na Suméria e Babilônia, tábuas egípcias foram encontradas sobre uma grande cervejaria em Tebas por volta de 2500 a.C. No ano 49 a.C., há relatos que Júlio César após uma perseguição brindou o sucesso com cerveja demonstrando a presença dessa bebida

no império romano e na Grécia antiga. Na Idade Média, a partir do século VI, a produção cervejeira foi difundida nos mosteiros por monges deixando-a mais conhecida na Suíça e Itália associando alguns santos à cerveja como São Patrício (MORADO, 2017).

Na Antiguidade, as mulheres assumiram um grande papel na produção de cerveja, sendo que na cultura *viking* apenas mulheres poderiam produzi-la. Por volta de 4000 a.C. na Babilônia e Suméria as produtoras de cerveja eram consideradas especiais e, registros do século XIII em vilas inglesas mostram que, entre seus cervejeiros, mais de 95% eram mulheres. Essa presença feminina tão forte se dissipou no final do século XVII com o surgimento de grandes empresas e produção em larga escala, ambiente ocupado majoritariamente por homens (MORADO, 2017).

Coutinho, Quintella e Panzani (2008) contam que na história do Brasil, a cerveja demorou a ganhar popularidade, pois Portugal incentivava o consumo de vinho português e somente após a chegada da corte portuguesa ao Brasil (1808) com a abertura do porto, foi permitido a importação de cerveja, principalmente inglesa, e com a popularidade da bebida, iniciou-se o movimento cervejeiro brasileiro.

Nesse sentido, é inegável que a cerveja britânica dominou o mercado brasileiro por muito tempo. O primeiro documento conhecido da cerveja brasileira é um anúncio publicado no Jornal do Comércio do Rio de Janeiro em 27 de outubro de 1836, onde a cerveja brasileira era oferecida em várias lojas conhecidas e estabelecidas no Brasil, estas localizavam-se entre Rio de Janeiro, São Paulo e Rio Grande do Sul, área habitada por imigrantes alemães. O crescimento do mercado cervejeiro continuou até a 2ª Guerra Mundial, período de grande confusão em muitos países e que fez com que o Brasil não pudesse mais importar cevada e lúpulo da Áustria e da Alemanha (DANTAS, 2016).

No final do século XIX, imigrantes italianos e alemães produziam sua própria cerveja em casa e a vendiam em sua “cervejaria” como forma de ganhar uma renda extra, até mesmo como “hobby”. A produção artesanal não permitia o transporte de cerveja de uma cidade para outra, inicialmente devido às más condições das estradas da época e porque a cerveja não podia ser transportada por muito tempo.

A primeira indústria cervejeira brasileira surgiu nas décadas de 1870 e 1880 e foi fundada por Friedrich Christoffel em Porto Alegre, que em 1878 já havia produzido até um milhão de garrafas. Apesar do grande volume, a cerveja no Brasil ainda apresentava sérios problemas com as técnicas de fermentação, além da dificuldade de importação da matéria-prima.

Com a chegada dos *freezers* em 1880 a cerveja brasileira deu um grande passo à frente, pois tornou-se possível controlar a fermentação e a temperatura, o que ajudou a homogeneizar a cerveja e criar qualidade.

De acordo com Dantas (2016) com a tecnologia de refrigeração recém-chegada ao Brasil, em 1880 foram fundadas duas grandes cervejarias, a Brahma fundada no Rio de Janeiro e a Antarctica fundada em São Paulo. Apesar do aumento das importações de cerveja alemã no final do século 19, com o crescimento e sucesso da cerveja brasileira no mercado, no início do século 20 as importações internacionais de cerveja cessaram.

As empresas Brahma e Antarctica tornaram-se donas do mercado cervejeiro brasileiro, sendo que ambas adquiriram outras empresas que já tinham clientes fiéis como Bohemia, Companhia Adriática, Skol e passaram a produzir refrigerantes como Guaraná Antarctica e Pepsi. Em 2 de julho de 1999, foi anunciada a fusão das duas empresas, tornando a Ambev a primeira multinacional brasileira e a segunda maior cervejaria do mundo (SANTOS, 2003). Posteriormente, em 2004, a junção da Ambev com a Interbrew origina InBev, maior produtora mundial de cerveja e em 2008, adquirindo a Budweiser, se torna AB InBev (MORADO, 2017).

### 3.1.2 Matéria-prima

Conforme estabelece a Instrução Normativa Nº 65, de 10 de dezembro de 2019, as matérias-primas obrigatórios para a produção e comercialização de cerveja no Brasil são: água, malte de cevada, lúpulo e levedura cervejeira (BRASIL, 2019).

#### 3.1.2.1 Água

A água utilizada na produção de cerveja pode ser dividida em dois grandes grupos: água nobre que é incorporada ao produto e água de serviço, utilizada em situações locais, em equipamentos e que não entra em contato com o produto (NIEVOLA; HLATAKI, 2011). O consumo individual de água de serviço pode ser demonstrado pela Tabela 1, adaptada de uma pesquisa realizada em indústrias cervejeiras alemãs (OLAJIRE, 2012).

Tabela 1- Consumo individual de água de serviço, adaptado de OLAJIRE (2012)

<b>Departamento</b>	<b>Consumo de água específico (m<sup>3</sup>/hL de cerveja produzida)</b>
Cervejaria	0,13 - 0,23
Fermentação	0,03 - 0,05
Armazenamento	0,02 - 0,07
Filtração	0,03 - 0,11
Envase (Garrafa)	0,06 - 0,16
Envase (Chope)	0,01 - 0,06
Outros	0,20 - 0,204
<b>Total em processos</b>	<b>0,49 - 0,89</b>

Por ser a matéria-prima mais presente na cerveja, cerca de 92% do volume final do produto (LEWIS e YOUNG, 2012), a água nobre a ser utilizada no processo de mosturação deve ser potável (BRASIL, 2019) e com baixo índice de contaminação microbiológica (COMRIE, 1967).

Devido a concentração de sais minerais dissolvidos em sua composição, a água pode ser separada de acordo com sua dureza em água dura e água mole, sendo essa característica calculada através da presença de íons de cálcio e magnésio, ou seja, se há pouca ou nenhuma presença desses íons, é denominada água mole porém se há concentração de cátions, cálcio, magnésio, acompanhados dos ânions carbonato, bicarbonato cloreto ou sulfetos em concentrações acima de 150 mg/L essa água é classificada como dura (LEWIS e YOUNG, 2012),

A dureza da água é caracterização decisiva na produção cervejeira, se o valor for muito alto, uma água muito dura, ela precisa ser tratada com o uso de um filtro de membrana para a filtração desses sais (ZARNKOW, 2014) e, caso a água esteja muito mole ela pode ser acidificada e tratada com sais para o nível desejado de dureza (HARRISON, 1963).

### 3.1.2.2 Malte de Cevada

Cevada é um cereal do gênero *Hordeum* e integrante da família de gramíneas *Poaceae* e indícios demonstram que seu cultivo começou cerca de 8000 a.C (BOTHMER, et al., 2003). Vertentes de pesquisas apontam que o início de seu cultivo possui ligação com o mito eleusino (BRIGGS, 2012), culto à Demeter (Ceres) relacionado à agricultura (PERISSATO, 2018). Atualmente a cevada ocupa o quinto lugar dos cereais mais produzidos no mundo com cerca de 140 milhões de toneladas por ano e “é empregada na alimentação humana, na forma de malte

utilizado na fabricação de bebidas (cerveja e destilados), de alimentos e medicamentos” (MORI; MINELLA, 2012, n.p).

O processo de malteação de grãos de cevada é, em resumo, uma germinação controlada do cereal e pode ser separado em três estágios: maceração, germinação e secagem (ZARNKOW, 2014).

É através do malte que se denomina a nomenclatura da cerveja, podendo variar das seguintes formas de acordo com a porcentagem de cevada maltada: “cerveja” quando igual ou superior a 55% e “cerveja puro malte ou 100% malte” quando igual a 100% (BRASIL, 2019).

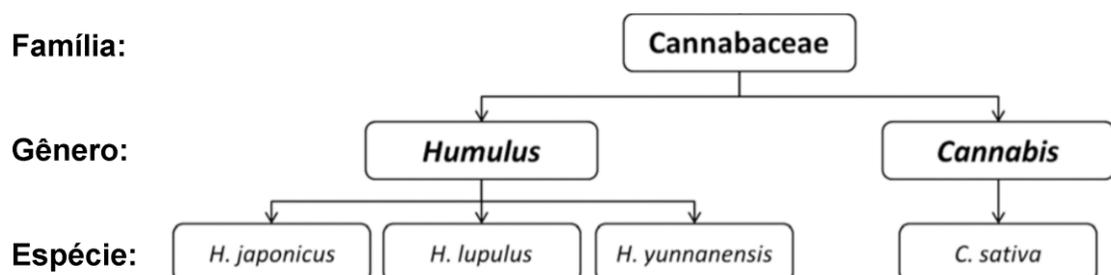
Aquarone et al., (2001) sugeriram que a principal função do malte é fornecer açúcar para a fermentação da cerveja. O malte é feito de cevada devido ao seu alto teor de amido, à qualidade e quantidade de proteína que nutre a levedura e ao fato de germinar facilmente. No entanto, Priest e Stewart (2006) mencionam que outros grãos também podem ser germinados, principalmente para a produção de cervejas especiais, como a cerveja de trigo alemã denominada *Weiss* produzida a partir de trigo germinado.

A malteação é necessária para a produção e liberação de enzimas que convertem cadeias longas de carboidratos em açúcares mais simples, facilitando a fermentação alcoólica por leveduras (KATZ, 2016).

### 3.1.2.3 Lúpulo

Pertencente da família *Cannabaceae*, como a *Cannabis sativa* (maconha), o gênero *Humulus* contempla três espécies dentre elas a *Humulus lupulus* (Figura 1). O lúpulo, é uma planta trepadeira comumente cultivada em zonas temperadas e suas principais funções na produção cervejeira é oferecer aroma e amargor para a bebida (STEVENS, IVANCIC, *et al.*, 1997; ALMAGUER, SCHÖNBERGER, *et al.*, 2014).

Figura 1 - Família *Cannabaceae*



Fonte: Almaguer; Schonberger, et al. (2014)

Somente suas inflorescências de plantas femininas, popularmente conhecidas como cones, são utilizadas no processo cervejeiro devido a sua concentração de resinas ser cerca de 150 vezes maior que as inflorescências das plantas masculinas. Os  $\alpha$ -ácidos presentes nos cones possuem propriedades bactericidas e agregam amargor à cerveja e são adicionados ao mosto para fervura e os  $\beta$ -ácidos dão aroma e são adicionados após a fervura, pois, se forem cozidos, trazem sabores indesejados (*off flavors*) (MORADO, 2017). Raramente o lúpulo é comercializado em sua forma natural devido à sua alta umidade e baixo tempo de validade, por isso suas formas mais comuns encontradas são cones desidratados e pellets (HUGHES, 2014).

#### 3.1.2.4 Microrganismos fermentadores

O processo de fermentação envolve a conversão de açúcares fermentáveis em dióxido de carbono e etanol pela ação de *S. cerevisiae* adicionada em condições anaeróbias (ALMEIDA; SILVA, 2005). Todos os carboidratos fermentáveis, principalmente glicose, maltose e maltotriose, são metabolizados pela levedura para produzir etanol e dióxido de carbono e durante a fermentação, o pH diminui de cerca de 5,2 para cerca de 3,8, o que favorece a fisiologia da levedura. A concentração final de etanol na cerveja depende principalmente da concentração de açúcares fermentáveis no mosto (RIBEIRO et al., 2018).

Para a realização da fermentação são utilizados microrganismos que transformam as substâncias do mosto em outros compostos como etanol, ésteres, fenóis e ácidos. Na produção de Pilsen e na maioria das cervejas, são utilizadas leveduras do gênero *Saccharomyces*, também podendo ser utilizados outros microrganismos com o intuito de agregar *bioflavors*, isto é, sabores e aromas advindos de processos orgânicos (VANDERHAEGEN, NEVEN, et al., 2003).

Leveduras do gênero *Brettanomyces*, são um ótimo exemplo de *bioflavoring* para cervejas, essas agregam sabores e aromas mais complexos como *sour* (ácidas), amadeirado, frutado e fenólico (SERRA COLOMER; FUNCH; FOSTER, 2019).

Além da fermentação alcoólica destaca-se bactérias gram-positivas do gênero *Lactobacillus* que podem ser adicionadas ao mosto com a finalidade de produzirem ácido láctico através de seu metabolismo, tornando a bebida mais ácida (DYSVIK et al., 2020).

A fase de fermentação pode ser dividida em adaptação e atenuação. O período de adaptação, ou fase *lag*, dura até 36 horas e é responsável por adaptar o levedo às condições apresentadas pelo mosto. A levedura, através do suprimento de nutrientes disponível, produz

as enzimas necessárias para a adaptação. Nesse período, o oxigênio contido no mosto é esgotado para tornar a reprodução mais eficiente nessa fase. O período de atenuação, ou fase *lag*, dura entre 2 e 10 dias. É nesta fase que a própria fermentação começa.

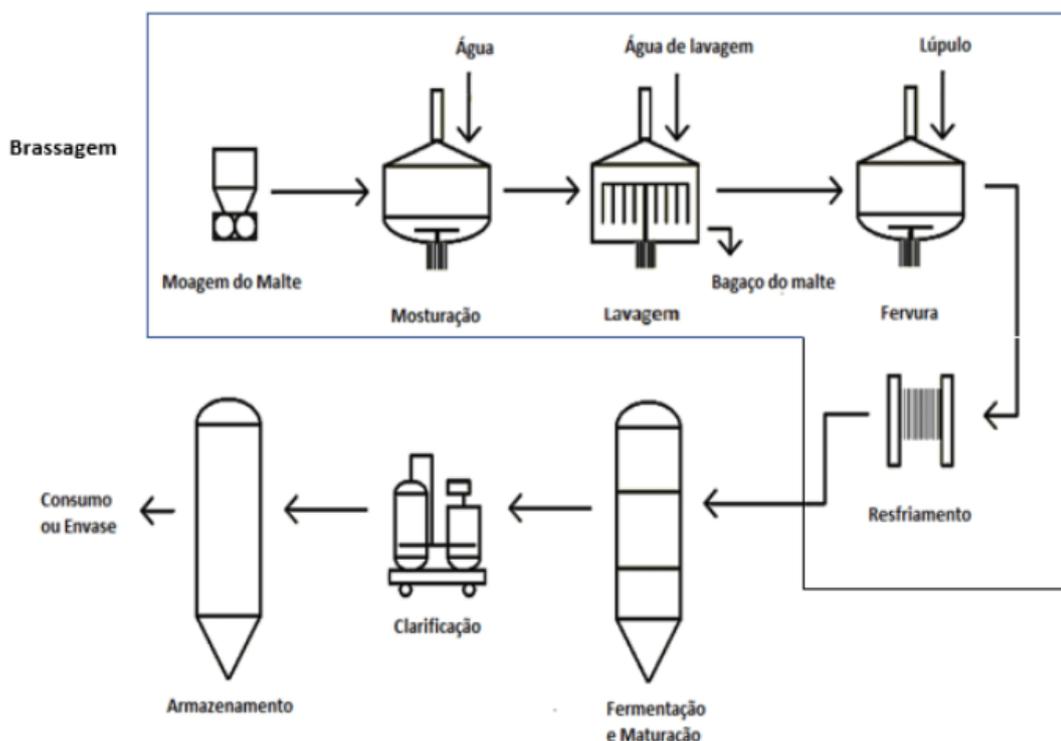
A levedura começa a metabolizar anaerobicamente, convertendo açúcares fermentáveis em álcool e liberando CO<sub>2</sub>. A taxa de perda de densidade do mosto é máxima nesta fase, tendendo a cair de 2/3 a 3/4 do valor inicial (TOSTES, 2015). Além do etanol e do dióxido de carbono, são produzidos alguns subprodutos do metabolismo das leveduras, como, entre outros, ácidos, álcoois alifáticos superiores, ésteres, diacetil, acetoína, ligações sulfurosas (VENTURINI, 2005).

O diacetil desempenha um papel importante na formação e remoção de aromas, com altas concentrações produzindo um aroma amanteigado rançoso. Sua produção de levedura (pode ser devido à baixa hidrólise de proteínas que não fornece compostos nitrogenados suficientes para o crescimento da levedura (RIBEIRO et al., 2018).

### 3.1.3 Etapas de produção

A produção de cerveja é dividida em várias etapas essenciais à produção de uma bebida de qualidade, as quais estão apresentadas na Figura 2. Vale destacar que para garantir a qualidade da bebida é importante um bom controle da fermentação afim de evitar contaminações.

Figura 2 - Representação esquemática das etapas de produção de cerveja



Fonte: Tozetto (2017)

### 3.1.3.1 Moagem

A moagem é a primeira etapa de fabricação da cerveja e consiste em desintegrar o grão por esmagamento, de forma que a casca seja quebrada, expondo o endosperma, que corresponde a fração interna do grão, promovendo assim uma melhor ação enzimática. Esta fase tem efeito direto na velocidade das reações físico-químicas, rendimento, clarificação e qualidade do produto final.

De acordo com Lewis e Young (2002) no processo de moagem é comum o uso de moinho de rolo, já que este deixa a casca do malte mais intacta, facilitando assim o processo de separação do mosto durante a clarificação, além de ajudar a reduzir a extração de polifenóis e componentes indesejáveis presentes na casca.

De acordo com Venturini (2020) durante esse processo, deve-se atentar para a granulometria final do grão, evitando a formação de partículas finas para evitar a formação excessiva de pasta na solução. Além disso a moagem facilita a dissolução do malte em água e prepara a camada filtrante do mosto.

O processo de moagem pode ser feito a seco ou úmido, é importante que a moagem não seja muito violenta para não prejudicar a fase de filtração do mosto pois as películas formarão o elemento filtrante do processo, mas se a moagem for muito grosseira não atingirá seu objetivo,

que é facilitar a hidrólise do amido devido à maior superfície de contato do substrato amiláceo com as enzimas do malte (OETTERER et al, 2006).

### 3.1.3.2 Mosturação

Para a produção da cerveja, há um processo de preparo do mosto cervejeiro a partir da conversão do amido em açúcar pela ação de enzimas provenientes do malte, em condições adequadas de temperatura e pH denominado mosturação (ABOUMRAD; BARCELLOS, 2015).

O processo de maceração, brasagem ou mosturação consiste na fervura do malte para extrair o açúcar que ele contém, com a quebra do amido: adiciona-se água ao malte moído, e então esta solução é exposta a diferentes temperaturas por um determinado período. O líquido resultante desse processo é o mosto (NASCIMENTO; LOPES, 2018, p. 18).

A hidrólise do amido, ou seja, a quebra do amido em moléculas menores e mais simples, é determinada em três etapas: gelatinização, liquefação e sacarificação. De acordo com Busch (2015) o primeiro processo, chamado de gelatinização, é uma etapa em que as moléculas de amido são quebradas repentinamente, permitindo que sejam facilmente convertidas por enzimas amilases.

A maceração consiste em submeter uma mistura de água, malte e aditivos a várias mudanças de temperatura por um determinado tempo, buscando a melhor hidrólise possível do amido, ativando e desativando certas enzimas que atuam melhor em cada faixa dessas temperaturas.

Então, em uma etapa conhecida como fase de liquefação, a água é absorvida pelo amido e o processo é realizado enzimaticamente pela  $\alpha$ -amilase. Aboumrad e Barcellos (2015) citam que este processo é lento se o amido não estiver gelatinizado, então o líquido ativo não pode agir até que ocorra a gelatinização. E a sacarificação, há a formação de açúcares que serão utilizados na fermentação.

A brasagem envolve extração e hidrólise dos componentes do malte e carboidratos solúveis (açúcar do malte). A solução de mosto contém proteínas, aminoácidos, sais minerais e carboidratos, que são fornecidos para as enzimas presentes no malte. Os tanques de mosturação são projetados para agitação constante e suave (que ajuda a dissolver o açúcar do malte) e manter o mosto suspenso.

Dos métodos de mistura possíveis, a mistura por infusão é o mais comum e requer apenas um equipamento sem agitação, conhecido como tanque de moinho. Com este

dispositivo, o extrato é disponibilizado em uma única temperatura de mistura, conhecida como temperatura de transição. Este método utiliza maltes minuciosamente processados, que possuem baixo teor de enzimas em sua composição. No entanto, esse processo não é suficiente para converter os aditivos, pois é necessária uma etapa prévia de gelatinização dessas substâncias (LEWIS e YOUNG, 2002).

A reação que ocorre no prato de moagem é controlada por uma curva de temperatura, que é composta por rampas de temperatura e taxa de recuperação. Para que todas as enzimas de interesse funcionem, o pH do meio também deve ser ajustado (BANDINELLI, 2015).

A escolha do tipo de mosto e do sistema de tempo/temperatura depende da composição da cerveja de seu interesse, bem como de sua composição, pois depende muito do tipo de açúcar a ser fermentado e das condições de operação, sua atividade enzimática (MAFRA, 2018).

### 3.1.3.3 Clarificação

A clarificação é um processo com separação rigorosa entre sólidos (grãos utilizados no processo de moagem) e líquido para remover sementes, reduzir a turbidez e aumentar a eficiência da fermentação (LEWIS e YOUNG, 2012).

A preparação deve ser seguida de uma etapa de filtração, para separar os componentes insolúveis. Nesta etapa, ocorre a separação entre o extrato solúvel e a casca de malte, além da separação de partículas e outras partículas insolúveis na mistura. A filtração, na maioria das vezes, ocorre por gravidade, o que tende a tornar o processo demorado. O que deve ser filtrado através de filtros de separação, tanques de moagem ou tanques de clarificação, é um tanque de fundo falso com furos (BLEIER; CALLAHAN, et al., 2013).

Para que isso aconteça, a substância deve ser recirculada com água a cerca de 80°C para lavar as sementes, onde o leito filtrante fica estável e límpido, e os sólidos são recolhidos e descartados (BRIGGS, BOULTON, et al., 2004a).

Esta etapa é importante para a qualidade da cerveja já que os sólidos contêm proteínas e enzimas coaguladas, resquícios de amido não modificado, material graxo, silicatos e polifenóis que de acordo com Matos (2011) podem gerar *offflavours* e prejudicar a viscosidade e o visual da cerveja.

### 3.1.3.4 Fervura

A fervura do mosto primário, ou seja, transformação do amido do malte em açúcares fermentáveis é responsável principalmente pela isomerização de  $\alpha$ -ácidos em iso- $\alpha$ -ácidos (LEWIS e YOUNG, 2012).

É na fervura que ocorre a evaporação de água, adição de lúpulo, esterilização do mosto e evaporação de dimetilsulfureto (DMS) um *off flavor* derivado de substâncias presentes no malte (HOUGH, *et al.*, 1982).

Esse processo visa a inativação de enzimas, esterificação do mosto, coagulação proteica, extração de compostos amargos e aromáticos do lúpulo, formação de substâncias constituintes do aroma e sabor, evaporação de água excedente e de componentes aromáticos indesejáveis ao produto final (VENTURINI FILHO, 2010, p. 30).

A adição de lúpulo e a isomerização dos seus compostos deve ocorrer nesta etapa pois são insolúveis na cerveja em temperatura ambiente, e ao condicioná-los à altas temperaturas são isomerizados agregando amargor à cerveja (LEWIS e YOUNG, 2012) e aumentando o tempo de prateleira devido à ação antimicrobiana do lúpulo (ALMAGUER, SCHÖNBERGER, *et al.*, 2014).

De acordo com Morado (2017, p. 132) essa adição pode ser feita em duas etapas “a primeira visa conferir amargor e a segunda presta-se à adição dos aromas florais, herbais e mesmo condimentados do lúpulo”

Após a fervura, o mosto é submetido a mais uma clarificação para a retirada do *trub*, isto é, partículas sólidas ainda presentes, como o lúpulo adicionado anteriormente. Essa etapa pode ser denominada de *whirlpool* e consiste em condicionar o mosto em movimentos circulares para que as partículas se choquem contra a parede do tanque e forme o *trub*. É necessária a retirada desse *trub* pois ele altera a formação de espuma, escurece a cerveja e para que aumente a eficiência da fermentação evitando que as leveduras se sedimentem muito rápido (WILLAERT, 2007). Após o *whirlpool* resfria-se o mosto até a temperatura ideal de fermentação.

A cerveja requer um longo processo de fervura para criar seu produto final, esse processo estabiliza os elementos bioquímicos e coloidais da cerveja, além de remover quaisquer aromas indesejados. Além disso, do lúpulo extrai o amargor e os aromas do mosto durante o processo de fervura. É por isso que Morado (2009) acredita que esse importante aspecto da fabricação de cerveja é vital para a produção e qualidade do produto final.

### 3.1.3.5 Fermentação

O objetivo principal da fermentação é transformar os açúcares presentes no mosto em álcool e esse processo acarreta a: redução de pH, clarificação, multiplicação das leveduras e geração de *bioflavors* (GÓES-FAVONI *et al.*, 2018).

A fermentação pode ocorrer de várias formas e varia de acordo com a quantidade de produto que se deseja, o espaço físico disponível, o valor investido no processo cervejeiro e os microrganismos utilizados no processo. Cervejas do tipo *Ales*, também conhecidas como cervejas de alta fermentação, são fermentadas por leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae* (levedura de alta). Recebem esse nome pois a fermentação ocorre em suspensão, ou seja, as leveduras ficam na parte “alta” do mosto, elas flutuam. A temperatura utilizada para a fermentação desse estilo é mais elevada (15° C a 25° C) e seu tempo mais curto (3 a 5 dias), resultando em cervejas mais complexas e frutadas (BELITZ, GROSCH e SCHIEBERLE, 2009; MORADO, 2017).

Na fabricação de cervejas de baixa fermentação, as *lagers*, são utilizadas, na maioria das vezes, leveduras da espécie *Saccharomyces pastorianus* que se aloca na parte inferior do fermentador, floculantes, assim recebendo o nome popular de levedura de baixa ou levedura *lager*. Essa espécie de levedura é capaz de consumir açúcares mais complexos resultando em cervejas mais refrescantes e com maior *drinkability* tornando o estilo como o favorito e mais consumido dos brasileiros. Para sua produção, são utilizados tempos de fermentação mais longos (10 a 14 dias) e temperaturas mais baixas (9°C a 15°C) (BELITZ, GROSCH e SCHIEBERLE, 2009; MORADO, 2017; QUINTINO, 2022).

Os dois principais tipos de fermentação são a alta e baixa fermentação e se diferenciam pelas leveduras utilizadas em cada uma, pelo comportamento das mesmas, flotação e floculação, pela temperatura ideal e pelo tempo necessário para a finalização da fermentação (PIRES e BRÁNYIK, 2015).

#### 3.1.3.5.1 Bioquímica da Fermentação Alcoólica

A fermentação alcoólica é um dos processos biotecnológicos de maior uso atualmente, pois utiliza-se seres vivos, geralmente leveduras, para a conversão de açúcares em etanol, usado para a produção de bebidas como a cerveja (WALKER e WALKER, 2018).

A fermentação alcoólica é um processo anaeróbico que ocorre através de enzimas pela conversão de açúcares em álcool etílico ( $C_2H_6O$ ) e dióxido de carbono ( $CO_2$ ). Esse processo é realizado principalmente pelas leveduras, a nível citoplasmático, com a finalidade de produzir energia, na forma de ATP, para uso nas atividades celulares e crescimento.

O álcool etílico produzido é um subproduto desse processo e atua como um inibidor de microrganismos competitivos. Segundo Lima et al. (2001), a fermentação alcoólica é dividida em etapas. A primeira fase começa quando as células são adicionadas ao substrato. Nessa fase ocorre a multiplicação celular e o açúcar é utilizado para a reprodução. Caracteriza-se por pequena elevação de temperatura e baixa liberação de  $CO_2$ , sua duração depende das características do sistema de fermentação e pode ser reduzida quando se utiliza alta concentração de células ou pela adição de células. A próxima fase se inicia com a liberação de grande quantidade de dióxido de carbono, fazendo com que o mosto se mova como se estivesse fervendo, formando espuma. Durante este período, ocorre uma elevação de temperatura que é regulada por meio de um trocador de calor (VENTURINI FILHO, 2010).

A extensão desse período é justificada pela redução das emissões de  $CO_2$ . Durante o período correspondente, as emissões de dióxido de carbono são muito reduzidas e o líquido aumenta no tanque de fermentação, a temperatura diminui e o teor de açúcar no meio diminui repentinamente, completando o processo em cerca de 8 horas (PASCHOALINI et al., 2009).

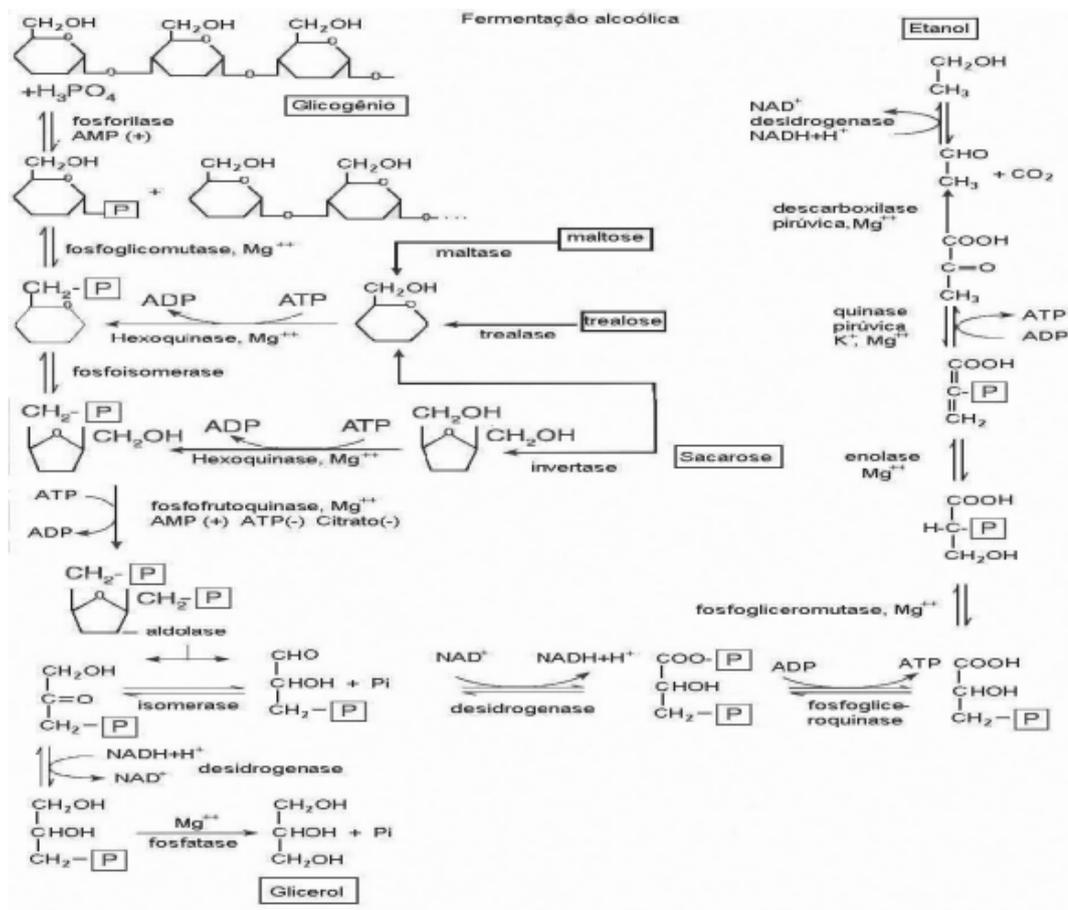
O processo de fermentação é fundamental para a produção de qualquer bebida alcoólica, cujo objetivo principal é metabolizar açúcar em etanol e dióxido de carbono pela levedura em condições anaeróbicas. Segundo Venturini Filho e Cereda (2001), no início da fermentação alcoólica, a quantidade de levedura utilizada deve ser tal que possam ser produzidas de 5 a 15 milhões de células de levedura por ml. Embora as condições variem de espécie para espécie, a fermentação requer 1 ppm de oxigênio dissolvido e 106 células por mL para cada grau Plato (ALMEIDA e SILVA, 2005).

De acordo com Livens e Harrison (2017) as fases do processo de fermentação são: *lag*, *log* e estacionária. A fase *lag* é quando a levedura se aclimata ao ambiente em que é inoculada e não faz uso significativo de carboidratos, pois as células são metabolicamente ativas e consomem partes do oxigênio e nitrogênio do mosto. A fase de crescimento ou *log* é o momento em que a levedura utiliza carboidratos como glicose, frutose, maltose e maltotriose para reprodução, produzindo etanol e  $CO_2$  e pôr fim a fase estacionária, onde os nutrientes não devem estar em concentração alta para que a levedura mantenha o metabolismo de carboidratos e as células entrem em dormência e a taxa de floculação e deposição da levedura aumente.

Segundo Munroe (1994), o oxigênio é utilizado pela levedura para produzir esteróis e ácidos carboxílicos insaturados, importantes para a síntese da membrana celular. Sem oxigênio primário, o crescimento celular é restrito, causando fermentação anormal e alterações no sabor da cerveja. O oxigênio é consumido pela levedura geralmente em poucas horas e, como o açúcar do mosto pode ser consumido no início da fase *lag*, o glicogênio é a principal fonte de energia para as células.

A fermentação alcoólica ocorre em condições anaeróbicas, com utilização de açúcares como glicose e frutose, que são metabolizados pela glicólise a ATP, produzindo etanol e dióxido de carbono como compostos secundários dos ácidos, formando ácido pirúvico nesse processo (ALEXANDRINO, 2012). Na Figura 3, Lima *et al* (2001) demonstra as doze reações que são catalisadas por enzimas específicas da fermentação alcoólica de carboidratos endógenos (glicogênio e trealose) ou exógenos (sacarose e maltose), conduzida por *Saccharomyces cerevisiae*.

Figura 3 - Sequência das reações enzimáticas pela fermentação alcoólica



Fonte: Lima *et al* (2001)

A levedura *Saccharomyces* tem a capacidade de ajustar-se metabolicamente a presença ou ausência de oxigênio pois são anaeróbios facultativos. Na presença de oxigênio, uma parte

do açúcar é transformada em biomassa, dióxido de carbono e água e enquanto na ausência de oxigênio a maior parte é convertida em etanol e dióxido de carbono, o que é chamado de fermentação alcoólica. O processo de aerobiose é energeticamente mais eficiente e tem a finalidade de promover o crescimento da levedura. O processo anaeróbico tem a função de promover a transformação do mosto em cerveja, por meio da conversão do açúcar em etanol e dióxido de carbono (LIMA et al., 2001).

Dos carboidratos encontrados na cerveja, maltose, glicose e maltotriose compõem 80% do total, enquanto o restante é principalmente composto por frutose e sacarose. O consumo de carboidratos ocorre sequencialmente, fermentando a sacarose, quase ao mesmo tempo que a glicose, e após ingerir cerca de 50% destes, começa a fermentar a maltose, somente quando a maltose se esgota, os microrganismos passam a utilizar a maltotriose como fonte de energia (LEI, 2016).

Além disso, a maltotriose é o maior problema que os cervejeiros enfrentam por causa de sua lenta taxa de fermentação, resultando em baixos rendimentos e alto teor de açúcar na cerveja. Junior (2010) cita que há estudos que mostram que as espécies fornecedoras de maltotriose têm outras finalidades além da produção de etanol, que são fontes de carbono e energia para a produção de células.

#### 3.1.3.6 Maturação

Após a fermentação primária com o fermento suspenso e uma porção das matérias-primas fermentados, passa por uma segunda fermentação denominada maturação (SIQUEIRA; BOLINI; MACEDO, 2008).

O processo de maturação envolve manter a cerveja recém-fabricada em baixa temperatura para melhorar a estabilidade coloidal, deposição de fermento residual e outros ingredientes, para atingir a pureza da cerveja (SALIMBENI; MENEGUETTI; VOLLIM, 2016)

A maturação geralmente ocorre em temperaturas próximas a 0° C, durando de 3 a 5 semanas para cervejas *lager* e até uma semana para cervejas *ales*. Esse relaxamento de baixa temperatura visa corrigir o sabor, reduzindo os níveis de diacetil, acetaldeído e sulfeto de hidrogênio. Além disso, há aumento da esterificação e inibição da oxidação que interfere no aspecto organoléptico (MAFRA, 2018).

O processo de maturação pode ser considerado como refino da cerveja, pois nesta etapa ocorre a fermentação das células de levedura, carbonatação, remoção de sabores e melhoria da estabilidade da espuma (WILLAERT, 2007). Nesta fase podem ser adicionados aditivos para

agregar mais sabor e aroma à cerveja, como especiarias e frutas, e na fase de maturação surge a técnica do *dry hopping*, que inclui a adição de lúpulo por meio de infusão a frio, para realçar o aroma, o sabor e o frescor da cerveja partir do  $\beta$ -ácido presente no lúpulo (MORADO, 2017).

### 3.2 Levedura

Louis Pasteur foi o responsável por desenvolver estudo que levaram ao reconhecimento da levedura como a responsável pela fermentação da cerveja. Os resultados de sua pesquisa não apenas identificaram leveduras, mas também desenvolveram uma importante ciência da bioquímica (SCHLENK, 1985).

As leveduras são fungos, como o mofo, mas distingue-se por apresentar-se geralmente e predominantemente na forma unicelular. Sua reprodução pode ser assexuada ou sexuada e geralmente ocorre como brotação nas células. O fermento cresce e se reproduz mais rápido que o mofo. Eles também são mais eficientes em relação ao peso e ao fazer alterações químicas. Ao contrário das algas, eles não fazem fotossíntese e não são protozoários, pois possuem paredes celular rígidas. Devido ao seu grande tamanho e características morfológicas, as leveduras não são entidades taxonômicas naturais e embora apresentem consistência morfológica, as espécies de leveduras são menos diferenciadas devido à falta de critérios morfológicos (PELCSAR, 1980).

Responsáveis pela etapa de fermentação da cerveja, as leveduras são microrganismos eucarióticos unicelulares, principalmente do Reino Fungi que se reproduzem por brotamento. São organismos naturalmente classificados por apresentarem padrões morfológicos diferentes entre si e por conta disso, a taxonomia e os nomes das leveduras são frequentemente alterados (DEÁK, 2008).

Devido à seleção artificial feita indiretamente pelos cervejeiros ao longo dos séculos, as leveduras mais comuns perderam a capacidade de produzir grãos, praticamente reduzindo a diversidade genética de geração em geração e trazendo unificação para a indústria (SICARD; LEGRAS, 2011). Após ser descoberta e isolada no final do século XIX, a levedura foi classificada de acordo com sua localização no final da fermentação.

As leveduras que se deslocam para a região superior são chamadas de “cepas *premium*” e são selecionadas para a produção das cervejas *Ale*, *Porter* e *Stout*; A levedura que se dissolve e fica no fundo do barril fermentando até o final do processo é conhecida como “fluxo baixo” e é muito procurada pelos cervejeiros interessados na produção de *lager*. Com o desenvolvimento industrial e pesquisas científicas, sabe-se que ambos os grupos de leveduras,

*ale e lager*, possuem alto grau de integração entre si e com diferentes espécies de leveduras como a *S. pastor.* e *S. eubayanus.* (KARABIN, 2017).

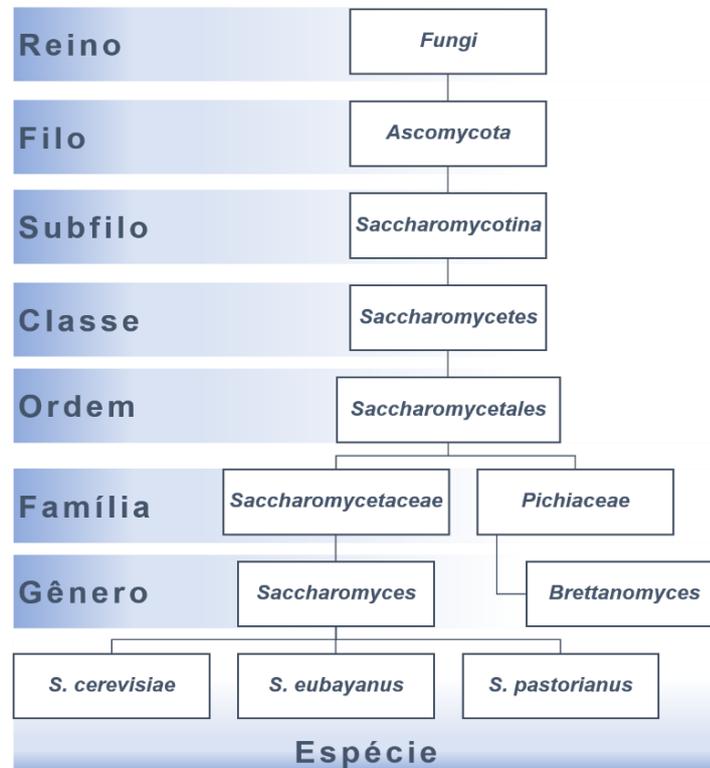
Atualmente, a indústria procura maneiras de aumentar a produção microbiana para tornar a produção mais barata e aumentar as margens de lucro. As propriedades consideradas satisfatórias e boas na levedura são a capacidade de fermentar vários compostos, alto grau de fermentação, resistência ao estresse, facilidade de modificação genética e capacidade de produzir sabores deliciosos e manter aromas no produto final. Por outro lado, pretende-se melhorar a capacidade de fermentação de açúcares como xilose, lactose e maltodextrina, medir a taxa de floculação de levedura e reduzir a fermentação espontânea. (WALKER; WALKER, 2018).

### 3.2.1 Taxonomia

Taxonomia é “parte da biologia que descreve, identifica e classifica os organismos em grupo ou individualmente” (DICIO, 2022). Atualmente a taxonomia é categorizada em: Domínio, Reino, Filo, Classe, Ordem, Família, Gênero e Espécie, sendo que, segundo a nomenclatura binomial, o nome científico de uma espécie deverá ser sempre precedido de seu gênero (DUARTE, CARELI e SILVA, 2011).

Leveduras são seres vivos unicelulares eucariontes do reino *Fungi*, dos fungos, são pertencentes do filo *Ascomycota*, ou seja, são ascomicetos (Figura 4). Esse filo possui mais de 33000 espécies nomeadas e diversos gêneros, entre eles o *Saccharomyces* (MONEY, 2016).

Figura 4: Taxonomia das espécies: *S. cerevisiae*, *S. eubayanus* e *S. pastorianus*, e do gênero *Brettanomyces*



Fonte: Money (2016)

### 3.2.2 O gênero *Saccharomyces*

O gênero de leveduras mais conhecido e comercializado no mundo é o *Saccharomyces*, nomeado pela primeira vez por Meyen em 1870. Sua reprodução pode ser sexuada e assexuada e todas suas espécies possuem potencial fermentativo alto, isto é, todas são relevantes microrganismos fermentadores na fermentação alcoólica de alimentos, de etanol combustível e de pães (VAUGHAN-MARTINI e MARTINI, 2011).

É um vasto gênero dividido em oito espécies: *S. cerevisiae*, *S. paradoxus*, *S. mikatae*, *S. jurei*, *S. kudriavzevii*, *S. arboricola*, *S. eubayanus* e *S. uvarum*, e dois híbridos naturais: *S. bayanus* e *S. pastorianus* (ALSAMMAR e DELNERI, 2020).

As diferenças genéticas do gênero *Saccharomyces* podem ter ocorrido por diversos fatores como características ambientais e geográficas, hibridizações naturais tanto no meio ambiente quanto em ambiente cervejeiro, além da domesticação, isto é, seleção artificial através da influência humana (ALSAMMAR e DELNERI, 2020).

Na fermentação alcoólica para a produção de cerveja as duas espécies mais comuns são *S. cerevisiae* para cervejas *ale* e *S. pastorianus* para cervejas *lager* devido aos seus perfis fermentativos. O primeiro produto lançado com a fermentação inteiramente realizada por *S. eubayanus* foi lançado pela Heineken® com o nome “*Wild Lager Exploration – New H41*” e sua campanha publicitária (Figura 5) representou as árvores da Patagônia ilustrando a descoberta da espécie (EIZAGUIRRE, 2019; HEINEKEN, 2017).

Figura 5: Campanha para divulgação da cerveja H41 da Heineken®.



Fonte: Heineken (2017)

### 3.2.3 A híbrida natural *Saccharomyces pastorianus*

Antes conhecida como *Saccharomyces carlsbergensis*, nomeada por E.C. Hansen em 1908, a *S. pastorianus* (Figura 6) é uma das espécies de leveduras mais utilizada para a produção de cervejas *lager* por ser tolerante e manter uma boa fermentação em baixas temperaturas (VAUGHAN-MARTINI e MARTINI, 2011).

Figura 6: *Saccharomyces pastorianus*.



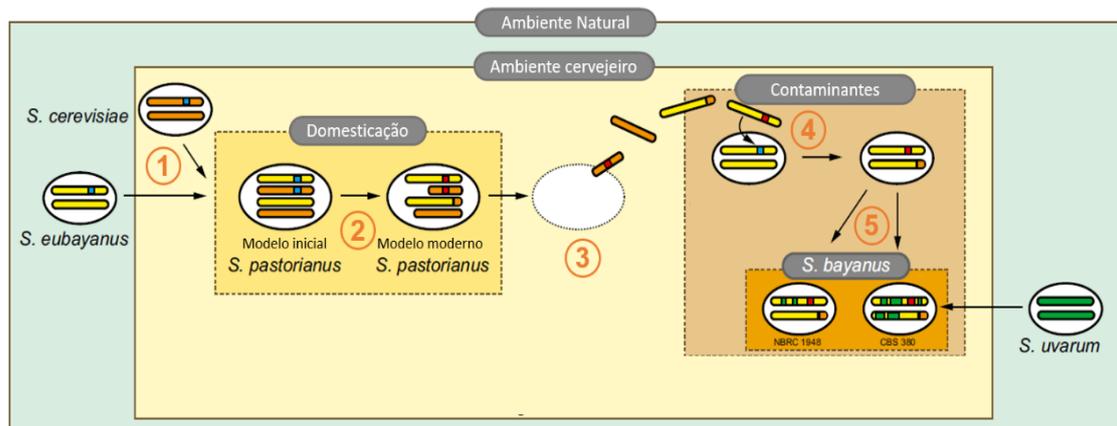
Fonte: Vaughan-Martini; Martini (2011)

Anteriormente ao sequenciamento da *S. eubayanus*, as teorias eram de que a *S. pastorianus* fosse uma espécie híbrida entre *S. cerevisiae* e *S. bayanus* por seu genoma ser maior e conter traços de ambas espécies (MARTINI e KURTZMAN, 1985) e que provavelmente teria sido domesticada pois não foram encontrados indícios de sua existência e evolução na natureza (VAUGHAN-MARTINI e MARTINI, 2011).

Através do isolamento de cepas de *S. eubayanus* na Patagônia que foram sequenciadas, descritas e nomeadas pela primeira vez em 2011, descobriu-se que, na verdade, a espécie era o elo perdido da origem da hibridização da *S. pastorianus*, e, nessa mesma pesquisa, foi comprovado que a *S. bayanus* também é um caso de hibridização natural, recebendo como parentais cepas das espécies *S. uvarum*, *S. cerevisiae* e *S. eubayanus* (LIBKIND, HITTINGERB, *et al.*, 2011).

O processo de formação da *S. pastorianus* (Figura 8) ocorreu devido a hibridização entre *S. eubayanus* e *S. cerevisiae*. Através da seleção artificial em ambiente cervejeiro, ocorreu a domesticação da *S. pastorianus* resultando em cepas com perfis fermentadores ideais. Com a grande quantidade de lise, isto é, rompimento das membranas das células, fragmentos de DNA de *S. pastorianus* espalhados pelo mosto interagem com células de leveduras contaminantes (nesse caso *S. cerevisiae*, *S. uvarum* e *S. eubayanus*) alterando o genoma dessas leveduras, originando cepas de *S. bayanus* (LIBKIND, HITTINGERB, *et al.*, 2011).

Figura 8: O processo de formação da espécie *S. pastorianus*.



Fonte: Adaptado de (LIBKIND, HITTINGERB, *et al.*, 2011)

Na Figura 8 é possível identificar que primeiramente ocorre a hibridização entre *S. eubayanus* e *S. cerevisiae* em ambiente cervejeiro. Em seguida ocorre a domesticação através da seleção artificial. A terceira etapa ocorre a lise que é onde as células liberam fragmentos de

DNA, na etapa seguinte esses fragmentos transformam o genoma de espécies contaminantes (*S. eubayanus*, *S. uvarum*, *S. cerevisiae*), dando origem assim as cepas de *S. bayanus*.

### 3.2.4 A espécie *Saccharomyces cerevisiae*

*Saccharomyces cerevisiae* deriva do latim *Saccharomyces* “fungo açucareiro”, *ceres* “grão” e *vise* “força”. Muito utilizada em indústrias cervejeiras e panificadoras é popularmente conhecida apenas como levedura, porém não são sinônimos visto que é uma espécie de um gênero de leveduras (BRIGGS, BOULTON, *et al.*, 2004c).

*Saccharomyces cerevisiae* é uma típica levedura ascomicética em brotamento. De acordo com Pelcsar Jr. *et al* (1997) cepas dessa espécie são utilizadas no processo de fermentação para a produção de bebidas alcoólicas. Na presença de oxigênio, o fermento oxida os açúcares a dióxido de carbono, responsável pelas "bolhas de ar" no pão. A levedura de cerveja e de padeiro tem sido usada há milhares de anos. Assim, *S. cerevisiae* é uma levedura de grande importância econômica há muito tempo.

É facilmente encontrada em frutas por suas características serem muito viáveis para esses ambientes, como seu consumo acelerado de monossacarídeos, produção e tolerância a maiores concentrações de etanol e por ser capaz de se desenvolver em lugares tanto aeróbicos quanto anaeróbicos, traços esses que demonstram vantagens ao se tratar da competição com outros microrganismos normalmente encontrados nessas frutas em decomposição (DASHKO, ZHOU, *et al.*, 2014).

As células de *S. cerevisiae* são elípticas, medindo cerca de 6 a 8 µm de comprimento e 5 µm de largura. Eles se reproduzem assexuadamente por brotamento. Durante o processo de brotamento, o núcleo se divide por constrição e parte dele entra no broto junto com outras organelas. A junção citoplasmática é fechada pela síntese de novo material da parede celular. Outras leveduras podem se reproduzir assexuadamente por fissão binária transversal. Esta levedura é chamada de levedura fissulada (em oposição a brotamento). Ambas as fases de fermentação haplóide e diplóide podem estar presentes nesta levedura. A cariogamia (fusão dos núcleos gaméticos) precede o estágio vegetativo diplóide; a meiose precede a fase vegetativa haploide. O ciclo de vida da levedura pode ser bastante variado. Essas variações podem ser devidas a diferenças de tempo e local onde ocorrem a plasmogamia (fusão de protoplastos), cariogamia e meiose (PELCSAR JR. *et al.*, 1997).

Por ser a espécie de levedura mais estudada no mundo, é protagonista em pesquisas sobre genética e os mecanismos de células eucariontes. Possui aplicações nos campos

alimentícios, na produção de biofármacos e teve seu genoma sequenciado pela primeira vez em 1996 tornando o mais conhecido sistema eucariótico, destacando sua relevância econômica e científica (ALSAMMAR e DELNERI, 2020).

### 3.2.5 A espécie *Saccharomyces eubayanus*

Isolada e sequenciada pela primeira vez através de um estudo em árvores na Patagônia em 2011, a *Saccharomyces eubayanus* foi um divisor de águas entre as nomenclaturas das espécies do gênero *Saccharomyces* pois, anteriormente ao seu sequenciamento, eram frequentemente confundidas as espécies *Saccharomyces uvarum* e *Saccharomyces bayanus* que, apesar de suas similaridades, são espécies distintas. Assim foi possível avaliar as espécies pertencentes ao gênero, atualizando suas nomenclaturas e categorizando como híbridos naturais a *Saccharomyces pastorianus* e *Saccharomyces bayanus* (LIBKIND, HITTINGERB, *et al.*, 2011).

Devido à sua tolerância a baixas temperaturas, a *S. eubayanus* possui papel importante na fermentação de vinhos devido a geração de *bioflavors* desejados para esse produto, a tolerância a baixas temperaturas e a velocidade fermentativa rápida em 10 °C. Apesar de não ser a espécie mais utilizada na fermentação de vinhos, essas características positivas expandem as opções de microrganismos a serem utilizados no processo de produção dessa bebida (PARPINELLO, RICCI, *et al.*, 2020).

Apesar de sua aptidão para produção de cervejas *lagers* devido ao seu crescimento em baixas temperaturas e produção de *bioflavors*, suas cepas não são tão utilizadas quanto à *S. pastorianus*, pois a *S. eubayanus* demonstra velocidade fermentativa mais lenta e produzem menos etanol, então, sua maior importância para a indústria cervejeira é ser parental da hibridização da *Saccharomyces pastorianus* podendo ser considerada material relevante de futuras pesquisas (EIZAGUIRRE, 2019).

## 3.3 Parâmetros

### 3.3.1 Temperatura

A temperatura pode ser considerada como um dos parâmetros mais importantes para o crescimento e desenvolvimento das leveduras na fermentação e maturação da cerveja. O seu

controle afeta diretamente a duração da fermentação alcoólica e quais produtos metabólicos serão produzidos pelas reações bioquímicas que ocorrerão durante o processo (FLEET, 1993).

Cada espécie de levedura se adapta melhor a uma faixa de temperatura para realizar as fermentações. Em média, as leveduras *ales* (*S. cerevisiae*) fermentam a 20° C durante 3 dias e as leveduras *lagers* (*S. pastorianus*) a 12,5° C por 10 dias, esses valores são descritos em variadas referências da literatura, as quais estão expostas na Tabela 2.

Tabela 2: Temperatura e tempo de fermentação descritos em livros publicados

Espécie de Levedura	Tipo de fermentação	Temperatura e Tempo Médio de Fermentação (média das referências)	Tempo de Fermentação	Temperatura de Fermentação (°C)	Referência
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Alta Fermentação (Ale)	20° C por 3 dias	3 a 5 dias	15 a 25	(MORADO, 2017)
			-	16 a 24	(HUGHES, 2014)
			2 dias	20 a 23	(LEWIS e YOUNG, 2001)
			2 a 3 dias	15 a 20	(BRIGGS, BOULTON, <i>et al.</i> , 2004b)
			-	20 a 22	(HOUGH, BRIGGS, <i>et al.</i> , 1982)
<i>Saccharomyces pastorianus</i>	Baixa Fermentação (Lager)	12,5° C por 10 dias	10 a 14 dias	9 a 15	(MORADO, 2017)
			-	7 a 15	(HUGHES, 2014)
			5 dias	12 a 17	(LEWIS e YOUNG, 2001)
			-	10 a 15	(BRIGGS, BOULTON, <i>et al.</i> , 2004a)

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

A temperatura e o tempo de fermentação podem variar de acordo com o estilo de cerveja produzido. Com o propósito de expor as variações de tempo e temperatura realizou-se uma pesquisa bibliográfica que reuniu informações de 12 artigos apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Temperaturas e tempos de fermentação obtidos de 12 trabalhos científicos

Espécie de Levedura	Tipo de fermentação	Tempo de Fermentação	Temperatura de Fermentação (°C)	Referência	Objetivo da Fermentação no Trabalho
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Alta Fermentação (Ale)	3 a 5 dias	22	(GIBSON, STORGÅRDS, <i>et al.</i> , 2013)	mosto atingir 5% de teor alcoólico
		-	25	(ALONSO-DEL-REAL, LAIRÓN-PERIS, <i>et al.</i> , 2017)	competição entre espécies
		6 a 7 dias	30 a 40	(LIN, ZHANG, <i>et al.</i> , 2012)	concentração máxima de etanol
		2 a 3 dias	20	(HEBLY, BRICKWEDDE, <i>et al.</i> , 2015)	concentração máxima de etanol
		20 dias	24	(ROMANO, SUZZI, <i>et al.</i> , 1994)	concentração mínima de acetaldeído
		6 a 10 dias	20	(JACKOWETZ, DIERSCHKE e ORDUÑA, 2011)	concentração mínima de acetaldeído
		3 a 5 dias 25 a 30°C; 6 a 8 dias a 20°C	20 a 30	(TORIJA, ROZÈS, <i>et al.</i> , 2003)	população máxima (ufc/mL)
		3 a 5 dias	20 a 25	(ERTEN, 2002)	população máxima (ufc/mL)
		-	30 a 34	(ARROYO-LÓPEZ, ORLÍC, <i>et al.</i> , 2009)	taxa máxima de crescimento (µmáx)

		-	35	(HEBLY, BRICKWEDDE, et al., 2015)	taxa máxima de crescimento ( $\mu$ máx)
		12 a 14 dias	10	(GIBSON, STORGÅRDS, et al., 2013)	mosto atingir 5% de teor alcoólico
		-	10 a 15	(HEBLY, BRICKWEDDE, et al., 2015)	comparação entre <i>S. cerevisiae</i>
		-	12	(ALONSO-DEL-REAL, LAIRÓN-PERIS, et al., 2017)	competição entre espécies
<i>Saccharomyces eubayanus</i>	Baixa Fermentação ( <i>Lager</i> )	1 dia	20	(HEBLY, BRICKWEDDE, et al., 2015)	concentração máxima de etanol
		23 dias a 12°C; 12 dias a 16°C; 7 dias a 26°C	12 a 26	(PARPINELLO, RICCI, et al., 2020)	população máxima (ufc/mL)
		-	30	(HEBLY, BRICKWEDDE, et al., 2015)	taxa máxima de crescimento ( $\mu$ máx)
		4 dias a 15 a 20°C; 7 dias a 10°C	10 a 20	(GIBSON, LONDESBOROUGH, et al., 2013)	atenuação máxima do mosto
<i>Saccharomyces pastorianus</i>	Baixa Fermentação ( <i>Lager</i> )	10 a 12 dias a 10°C; 4 a 7 dias a 12°C	10 a 12	(GIBSON, STORGÅRDS, et al., 2013)	mosto atingir 5% de teor alcoólico
		3 a 6 dias	10 a 16	(BELLOCH, ORLIC, et al., 2008)	comparação entre <i>S. cerevisiae</i>
		2 a 3 dias	20	(HEBLY, BRICKWEDDE, et al., 2015)	concentração máxima de etanol

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Os resultados obtidos dos artigos científicos analisados (Tabela 3) diferenciam-se um pouco dos valores descritos por autores apresentados na Tabela 2. O motivo principal dessas divergências deve-se aos diferentes objetivos da fermentação nos artigos e serão detalhados ao decorrer deste trabalho.

Como explicado por Romano et al., (1994) e Jackowetz, Dieschke e Orduña (2011), se o objetivo for diminuir a concentração de acetaldeído (*off flavor*) em alta fermentação é indicado que o processo aconteça de 6 a 20 dias em torno de 20 °C a 24 °C utilizando *S. cerevisiae*.

Ao observar a população máxima (UFC/mL) alcançada pelas leveduras, Erten (2002) observou que a espécie *S. cerevisiae* leva de 3 a 5 dias em temperaturas de 20° C a 25° C para atingir a população máxima. Devido os materiais e métodos utilizados por Torija et al. (2003) não serem os mesmos da pesquisa anterior, os resultados não coincidem trazendo em sua pesquisa que a espécie leva de 3 a 5 dias em temperaturas de 25° C a 30° C ou 6 a 8 dias a temperatura de 20° C para atingir sua população máxima.

De acordo com Yamagishi e Ohnuki *et al* (2010) um dos genes responsáveis pelo baixo desempenho de *S. cerevisiae* em temperaturas mais frias é o gene *kex2*, responsável por codificar uma protease, porém Gibson e Storgårds *et al* (2013 a) garantem que o mecanismo que torna a levedura mais tolerante a baixas temperaturas ainda segue em questionamento.

Ao estudar a concentração máxima de etanol Lin et al., (2012) e Hebly et al., (2015) observaram que a concentração máxima de etanol foi obtida para temperaturas entre 20° C a 40° C e o tempo de fermentação entre 2 e 7 dias para *S. cerevisiae*. Em seu trabalho, Hebly et al., (2015) demonstram que para uma fermentação com *S. eubayanus* obter a concentração

máxima de etanol em 20°C, seu tempo de fermentação ocorra em 1 dia, e para *S. pastorianus* em 2 a 3 dias.

Ao analisar a taxa máxima de crescimento ( $\mu_{\max}$ ), a variação de temperatura que demonstrou maior taxa nos trabalhos de Arroyo-López et al., (2009) e Hebly et al., (2015) foi de 30°C a 35°C para *S. cerevisiae* e 30°C para *S. eubayanus*.

Nos estudos de Alonso-Del-Real et al. (2017) que analisaram a competição entre espécies de levedura vinculadas a temperatura, verificou-se que a temperatura ótima para *S. cerevisiae* seria 25°C e para *S. eubayanus*, 12°C, esses resultados foram obtidos analisando a predominância de uma espécie sobre a outra no mesmo mosto de vinho, variando apenas temperatura.

Para a comparação, de modo geral, entre *S. cerevisiae* e as demais espécies, foi observado que a espécie *S. eubayanus* sobressai em temperaturas de 10° C a 15° C (HEBLY, BRICKWEDDE, et al., 2015) e a *S. pastorianus* de 10° C a 16° C por 3 a 6 dias (BELLOCH, ORLIC, et al., 2008), essa semelhança demonstra a similaridade de tolerância a baixas temperaturas das duas espécies.

No trabalho de Gibson et al., (2013a) ao analisar o mosto atingir 5% de teor alcoólico, observa-se que durante o processo fermentativo a temperatura ótima para *S. cerevisiae* foi de 22° C por 3 a 5 dias, para *S. eubayanus* foi 10° C por 12 a 14 dias, e para *S. pastorianus*, 10 a 12 dias a 10°C ou 4 a 7 dias a 12°C.

No trabalho de Parpinello et al., (2020), para *S. eubayanus* os seguintes tempos de fermentação e temperaturas são observados: 23 dias a 12°C, 12 dias a 16°C ou 7 dias a 26°C, entretanto após 7 dias a 26° C houve alta taxa de morte celular e o número de células viáveis foi menor que em 12° C, demonstrando a preferência da espécie para temperaturas mais baixas.

Apesar de possuir melhor crescimento a 30° C, *S. eubayanus* é considerada uma levedura de baixa temperatura pois não suporta temperaturas acima de 35° C, apresentando alta taxa de morte celular em tempos de fermentação longos a 26° C. Seu crescimento, comparado à *S. cerevisiae* a 30°C, é insatisfatório e em temperaturas mais baixas entre 10° C a 15° C seu crescimento é superior ao de *S. cerevisiae* (HEBLY, BRICKWEDDE, et al., 2015; PARPINELLO, RICCI, et al., 2020).

Gibson et al. (2013a) em um artigo publicado na revista *Yeast*, explicam que a hibridização das espécies pode ser visualizada comparando o tempo de fermentação acelerado da *S. pastorianus* herdado da *S. cerevisiae* e a tolerância a baixas temperaturas, herdado da *S. eubayanus*. Também é citado que as diferenças de resistência de temperatura entre dois grupos genéticos de *S. pastorianus*, *Frohberg* e *Saaz*, são notadas pela proporção genética herdada de

seus parentais, dentre as cepas citadas no artigo, as cepas *Frohberg* possuem maior semelhança genética com *S. cerevisiae*, portanto se desenvolve melhor em temperaturas mais altas enquanto a cepa *Saaz* possui maior semelhança genética com *S. eubayanus* ganhando vantagem na fermentação de baixa temperatura.

Através das análises fica perceptível o quanto a temperatura de fermentação influencia o resultado do produto, sendo as características organolépticas da bebida as mais afetadas por esse parâmetro. Então, fica a critério do mestre cervejeiro a escolha da melhor temperatura para a produção de sua determinada cerveja, levando em consideração o estilo cervejeiro a ser alcançado e a característica desejada para seu produto.

### 3.3.2 pH

O pH do meio em que a levedura será cultivada afeta a parede celular e proteínas da membrana plasmática modificando a forma em que a célula se comporta, alterando a fermentação alcoólica e seus subprodutos (LIU, JIA, *et al.*, 2015).

Leveduras da espécie *S. cerevisiae* são consideradas como microrganismos acidófilos por se desenvolverem melhor em meios ácidos podendo variar o pH entre 4 e 6. Essas variações podem ocorrer devido às cepas, a temperatura e a concentração de oxigênio utilizadas em cada pesquisa (NARENDRANATH e POWER, 2005).

Arroyo-López *et al.*, (2009) defendem que o pH inicial não interfere no crescimento da espécie *S. cerevisiae*, porém interage com a taxa específica de crescimento máxima ( $\mu_{max}$ ), aumentando com a elevação do pH. Em seu trabalho, as medições foram realizadas a partir de pH 2,24 até 4,76 sendo que a maior  $\mu_{max}$  obtida foi registrada em 4,76.

De acordo com Liu *et al.*, (2015), o pH inicial afeta diretamente a fermentação alcoólica e o crescimento de *S. cerevisiae*, pois um pH inicial baixo prolonga a fase *lag* e inibe o seu crescimento, contrastando o argumento de Arroyo-López. Ambos os trabalhos demonstraram que, em pH entre 4 e 5, o crescimento da espécie é maior.

Em relação aos produtos e subprodutos da fermentação alcóolica por cepas de *S. cerevisiae*, o pH possui importância significativa. Em uma pesquisa realizada por Narendranath e Power (2005) analisando valores de pH comumente utilizados na indústria (4; 4,5; 5 e 5,5) obtiveram dados que mostram a capacidade da levedura em metabolizar mais açúcares em etanol nas medidas de pH mais altas (5 e 5,5). Liu *et al.*, (2015) afirmam a menor concentração final de etanol em pH mais baixo (2.5) e acrescentam que as concentrações de ácido acético e

glicerol aumentam nessa situação, acarretando menor concentração de acetaldeído (*off flavor*) e maior viscosidade e dulçor do produto final (GUIMARÃES, 2015; COSTA, 2019).

Imai e Ohno (1995) explicam que o pH intracelular de leveduras *S. cerevisiae* em estado latente é constante e dependente do meio extracelular e pode variar em suas fases de crescimento, sendo pH 5,5 na fase *lag*, 6,8 na fase exponencial e 5,5 na fase estacionária indicando que as bombas de prótons foram ativadas durante seu crescimento. Segundo Kobayashi e Otake (2018) o pH intracelular de *S. pastorianus* foi constante (aproximadamente 5) em pH externo entre 4 e 5, em pH externo mais baixo (3) o pH intracelular reduziu para 3,5 após exposição de 3 minutos a uma temperatura de 45 °C. Esses resultados comprovam que a afirmação de Imai e Ohno (1995) também é válida para *S. pastorianus*, pois a mudança de pH interno ocorreu devido á danos na membrana plasmática oriunda da alta temperatura, provocando maior concentração de íons H<sup>+</sup> no interior da célula, abaixando o pH intracelular (KOBAYASHI e ODAKE, 2018).

Ao analisar leveduras *S. pastorianus* em diversas medidas de pH (entre 2 e 11), Wu e et al., (2011) demonstram que a melhor taxa de crescimento foi obtida em pH 6, sendo significativamente alta em pH 5 e 7 também.

Dados obtidos através do material e das aulas de um curso avançado de cerveja artesanal realizado na *Brau Akademie* (2021) sugerem que o controle de pH aconteça naturalmente na fervura, destacando o pH de 5,2 como um pH ótimo. Na bibliografia estudada para produção dessa revisão, não foram encontrados dados referentes ao controle de pH durante a fermentação alcoólica no dia a dia da produção de cerveja industrial ou artesanal, somente referente ao acompanhamento do pH, que indica a atuação da levedura no mosto, demonstrando início (redução do pH) e fim (estabilidade do pH) da fermentação (AREDES, 2021).

Como resultado das análises, o controle de pH é interessante para a propagação de leveduras e obtenção de subprodutos que podem ser utilizados na fermentação e produção de alimentos.

### 3.3.3 Aeração

Em estudos comparando o crescimento celular de leveduras *S. cerevisiae*, em meio líquido e em gel notou-se um crescimento 16% mais rápido em colônias cultivadas em gel que passaram por fervura antes do cultivo, indicando que quanto mais bolhas, menor fase *lag*, mais rápido crescimento (PARK, BAKER, *et al.*, 1985).

Um trabalho mais recente utilizando *S. pastorianus* comprovou que quanto mais aerado o mosto for, maior concentração de oxigênio dissolvido até sua saturação, afetando o crescimento, absorção de glicose e a biomassa (WU, LIN, *et al.*, 2011).

Liu *et al.*, (2016) destaca que o controle da aeração aumenta biomassa, a viabilidade celular, acelera o processo de fermentação e diminui glicose residual.

Esses dados convergem com a pesquisa de Wu *et al.*, (2011) que demonstram uma saturação de oxigênio dissolvido a uma aeração constante de 1,6 vol/vol/min, assim ambas pesquisas apontam que a melhor forma de se obter o melhor resultado de fermentação é controlando a aeração (LIU, HAO, *et al.*, 2016).

Para Fujiwara e Tamai (2003) a aeração do mosto é uma etapa importante anterior ao inóculo da levedura pois contribui para o seu crescimento e modifica a sintetização de ésteres.

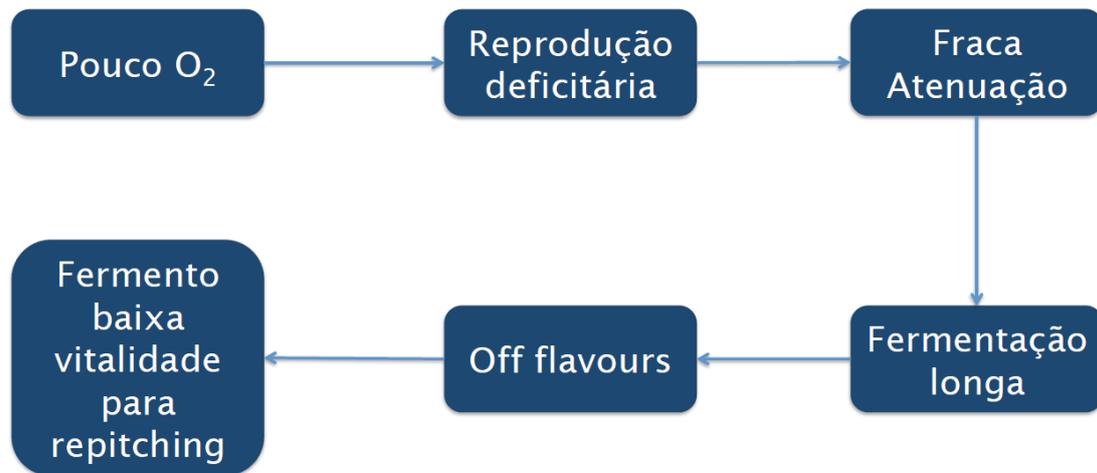
O excesso de aeração do mosto pode prejudicar a fermentação, seus produtos e a concentração final de etanol (FUJIWARA e TAMAI, 2003; LIU, HAO, *et al.*, 2016). Em seu trabalho, Fujiwara e Tamai (2003) demonstram que a aeração ideal foi um TDOC (*total dissolved oxygen consumption* ou consumo total de oxigênio dissolvido) de 2,01 gO<sub>2</sub>/g de levedura.

Analisando a viabilidade econômica para a produção cervejeira, a aeração realizada anterior ao inóculo ou por uma hora durante a fermentação aparenta ser mais atraente visto que os resultados são superiores ao modelo anaeróbico e semelhantes ao modelo de aeração constante de 1,0 vvm (MAEMURA, MORIMURA e KIDA, 1998).

Em escala de produção cervejeira industrial em aeração de 7,10 e 12 ppm de O<sub>2</sub> a espécie *S. pastorianus* demonstrou uma diminuição de acetaldeído significativa (cerca de 10%) em 10 e 12 ppm, porém não foi obtido diferença significativa acerca das outras características avaliadas: fermentação e maturação, viabilidade e vitalidade celular, consumo de oxigênio e análise sensorial (KUCHARCZYK e TUSZYŃSKI, 2017).

Em escala de produção artesanal, a aeração ideal é realizada anterior ao *pitching* com concentração de O<sub>2</sub> de 8-10 ppm para *lagers* e 4-6 ppm para *ales*, e a sua importância para a levedura é representado pela Figura 07 (AREDES, 2021).

Figura 7: Representação esquemática da importância da aeração no mosto cervejeiro



Fonte: Aredes (2021)

Em suma nota-se que apesar da vasta variedade de espécies de leveduras a mais comum usada na produção de cerveja é a *S. cerevisiae* devido a sua alta eficiência fermentativa, sua cultura usa além do carbono, hidrogênio e oxigênio, porém o meio também deve conter nitrogênio, fósforo, enxofre, potássio, magnésio, cálcio, zinco, manganês, cobre, ferro, cobalto, iodo e outros oligoelementos (LIMA et al., 2001).

Sendo assim durante a fermentação alcoólica, as células de levedura têm necessidades nutricionais que afetam diretamente a reprodução, o crescimento celular e a eficiência com que o açúcar é convertido em álcool.

## 4 CONCLUSÃO

Em conclusão desta revisão ao analisar as principais espécies de leveduras *Saccharomyces* utilizadas na fermentação alcoólica, buscou-se compreender os efeitos dos parâmetros de pH, temperatura e aeração na fabricação da cerveja, alcançando o principal objetivo desta pesquisa.

O fato é que a *Saccharomyces* é um gênero de levedura que tem como foco a pesquisa em biotecnologia e possui grande mercado para a produção de pães, cervejas e vinhos. É a levedura mais utilizada na produção de alimentos, também impacta outras indústrias que utilizam a fermentação alcoólica, como pesquisa e desenvolvimento, avanços biotecnológicos, maior conhecimento da espécie e maiores rendimentos das fermentações.

Conforme apresentado ao longo da revisão, é possível reforçar a importância do gênero *Saccharomyces* no ambiente cervejeiro, visto que o mesmo pode impactar fortemente as características sensoriais e físico-químicas da cerveja.

As informações e dados apresentados neste trabalho contribuem de forma significativa no campo de estudo das espécies *S. cerevisiae*, *S. eubayanus* e *S. pastorianus*, pois aborda, analisa e compara parâmetros importantes para a produção de cervejas. Sendo assim vale ressaltar o quanto é necessária a realização de pesquisas sobre esses parâmetros antes da produção de cervejas artesanais, para que o mestre cervejeiro utilize a levedura e o mosto de maneira mais eficiente e obtenha o melhor produto possível para a receita que planeja.

Os conteúdos aqui apresentados demonstram que muitas outras pesquisas ainda podem ser realizadas sobre as espécies, principalmente *S. eubayanus* por ser uma espécie catalogada há pouco tempo, devido à sua tolerância a baixas temperaturas, sua capacidade de produção de *bioflavors* e inúmeras contribuições para o meio acadêmico, com a finalidade de mapear e encontrar novas cepas.

## REFERÊNCIAS

- ABOUMRAD, J. P. C.; BARCELLOS, Y. C. M. **Análise e simulação das operações de mostruração e fermentação no processo de produção de cervejas**. 2015. 82 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Departamento de Engenharia Química e de Petróleo) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2015. Disponível em: <https://app.uff.br/riuff/bitstream/handle/1/1624/Projeto%20Final%20-%20Yvie%20e%20Jean.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em 23 jan. 2023.
- ALEXANDRINO, N. **Melhoramento de leveduras para fermentação com alto teor alcoólico mediante hibridação e evolução adaptativa**. Dissertação (Mestre em Ciências) - Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2012. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11138/tde-20092012-084510/pt-br.php> . Acesso em: 15 jan. 2023.
- ALMAGUER, C. et al. *Humulus lupulus* – a story that begs to be told. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 120, n. 4, p. 289-314, Setembro 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jib.160>. Acesso em: 05 jan. 2023.
- ALMEIDA e SILVA, J.B. **Tecnologia de Bebidas: matéria prima, processamento, BPF / APPCC, legislação e mercado** In: Venturini Filho, W.G. Cerveja. São Paulo: Edgard Blucher, 2005.
- ALONSO-DEL-REAL, J. *et al.* Effect of Temperature on the Prevalence of *Saccharomyces Non cerevisiae* Species against a *S. cerevisiae* Wine Strain in Wine Fermentation: Competition, Physiological Fitness, and Influence in Final Wine Composition. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 7 fev. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00150>. Acesso em: 24 jan. 2023.
- ALSAMMAR, H.; DELNERI, D. An update on the diversity, ecology and biogeography of the *Saccharomyces* genus. **FEMS Yeast Research**, v. 20, n. 3, 20 mar. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsyr/foaa013>. Acesso em: 24 jan. 2023.
- AMBEV. Sobre a Ambev. Disponível em: <<https://www.ambev.com.br/sobre/nossahistoria/>>. Acesso em: 07 jan. 2023.
- ANDRADE, H. N. D. Influência da água cervejeira sobre o perfil sensorial das cervejas artesanais de alta fermentação. **Universidade Federal Rural Do Semi-Árido**, Pau dos Ferros, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufersa.edu.br/handle/prefix/5974>. Acesso em: 14 mar. 2023.
- AREDES, M. CURSO AVANÇADO DE PRODUÇÃO DE CERVEJA. **Bräu Akademie**, 2021. Disponível em: <<https://1drv.ms/b/s!AuOybnZTrZgJgpVG-MSAO54grYGMwg?e=Ur1S7w>>.
- ARROYO-LÓPEZ, F. Noé *et al.* Effects of temperature, pH and sugar concentration on the growth parameters of *Saccharomyces cerevisiae*, *S. kudriavzevii* and their interspecific hybrid. **International Journal of Food Microbiology**, v. 131, n. 2-3, p. 120-127, maio 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.01.035>. Acesso em: 24 jan. 2023.

AQUARONE, E. *et al* . *Biotechnologia Industrial* - Vol. 4. [S. l.]: Edgard Blucher, 2001.

BELITZ, H.-D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. Alcoholic Beverages. In: \_\_\_\_\_ **Food Chemistry**. 4<sup>a</sup>. ed. [S.l.]: Springer, Berlin, Heidelberg, 2009.

BANDINELLI, P. C. **Estudo de caso de melhoria no processo de demonstração de uma cervejaria no RS**. Trabalho de Conclusão de Curso. 2015. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/131362>. Acesso em: 26 jan. 2023.

BELLOCH, C. et al. Fermentative stress adaptation of hybrids within the *Saccharomyces sensu stricto* complex. **International Journal of Food Microbiology**, v. 122, p. 188-195, 2008.

BLEIER, B. et al. **Craft Beer Production**. University of Pennsylvania. Filadélfia: editor, 2013. Disponível em: [https://repository.upenn.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1049&context=cbe\\_sdr](https://repository.upenn.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1049&context=cbe_sdr). Acesso em: 27 jan. 2023.

BOTHMER, R. V. et al. **Diversity in Barley (*Hordeum vulgare*)**. [S.l.]: Elsevier, 2003.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 65, de 10 de dezembro de 2019.pdf — Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/instrucao-normativa-no-65-de-10-de-dezembro-de-2019.pdf/view>. Acesso em: 24 jan. 2023.

BRIGGS, D. E. **Barley**. [S.l.]: Springer Science & Business Media, 2012.

BRIGGS, D. E. et al. Mashing technology. In: BRIGGS, D. E., et al. **Brewing: Science and Practice**. [S.l.]: Elsevier, 2004b. p. 189-226. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781855734906500064> . Acesso em: 04 abr. 2022.

BRIGGS, D. E. et al. The science of mashing. In: BRIGGS, D. E., et al. **Brewing: Science and Practice**. [S.l.]: Elsevier, 2004a. p. 85-170. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781855734906500040>>. Acesso em: 05 mai. 2022.

BRIGGS, D. E. et al. Yeast biology. In: BRIGGS, D. E., et al. **Brewing: Science and Practice**. [S.l.]: Elsevier, 2004c. Cap. 11, p. 363-400. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781855734906500064>>. Acesso em: 05 mai. 2022.

CARREIRO, J. **Marcas de produtos sem glúten chegam a crescer até 200% por ano no Brasil**. 2017. Disponível em: <https://emails.estadao.com.br/blogs/comida-de-verdade/marcas-de-produtos-semgluten-chegam-a-crescer-ate-200-por-ano-no-brasil/>>. Acesso em 06 jun. 2019.

CARVALHO, M. V. M. **História da Cerveja**. 2017. Disponível em: <https://web.fe.up.pt/~up201703893/beer/história.html>. Acesso em: 6 jan. 2023.

CERVBRASIL. Dados do Setor. 2020. Disponível em: <[http://www.cervbrasil.org.br/novo\\_site/dados-do-setor/](http://www.cervbrasil.org.br/novo_site/dados-do-setor/)>. Acesso em: 06 jan.2023.

CICUTO, L. C. **Seleção de projetos de conformação mecânica em ferramental de estampo por meio de métodos multicritério de apoio à decisão**. p. 58. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Guarapuava, 2019.

COMRIE, A. A. D. BREWING LIQUOR-A REVIEW\*. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 73, n. 4, p. 335-346, 8 jul. 1967. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1967.tb03050.x>. Acesso em: 24 jan. 2023.

COUTINHO, C. A. T.; QUINTELLA, C. PANZANI, M. M. **A História da cerveja no Brasil**. Disponível em: <http://www.cervesia.com.br/historia-da-cerveja/72-a-historia-da-cerveja-no-brasil.html>. Acesso em: 10 jan. 2023.

COSTA, P. S. P. da. **Estudo da fermentação de cervejas Ale e Lager**. 2019. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) – Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas, 2019.

DANTAS, V. N. **A trajetória da cultura cervejeira e sua introdução no brasil**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal de Juiz de Fora. 12 f. 2016. Disponível em: <https://www.ufjf.br/bach/files/2016/10/VITORIA-NASCIMENTO-DANTAS.pdf>. Acesso em: 05/01/2023.

DASHKO, S. *et al.* Why, when, and how did yeast evolve alcoholic fermentation? **FEMS Yeast Research**, v. 14, n. 6, p. 826-832, 9 jun. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1567-1364.12161>. Acesso em: 24 jan. 2023.

DEAK, T. **Handbook of Food Spoilage Yeasts**. [S. l.]: CRC Press, 2007. *E-book*. ISBN 9780429148224. Disponível em: <https://doi.org/10.1201/9781420044942>. Acesso em: 24 jan. 2023.

DICIO. Significado de Taxonomia. **Dicio**, 2022. Disponível em: <<https://www.dicio.com.br/taxonomia/>>. Acesso em: 09 mar. 2022.

DYSVIK A., et al.. Co-fermentação envolvendo *Saccharomyces cerevisiae* e espécies de *Lactobacillus* tolerantes a fatores de estresse relacionados à fabricação de cerveja para produção controlada e rápida de cerveja azeda. **Frente. Microbiol.** 11 :279. 2020. Disponível em: doi:10.3389/fmicb.2020.00279. Acesso em: 08 jan. 2023.

DUARTE, E. R.; CARELI, R. T.; SILVA, K. L. D. Classificação e evolução de micro-organismos. In: PESSOA, F. O. A.; FREITAS, E.; SILVA, K. L. D. **Microbiologia Básica para Ciências Agrárias**. 1ª. ed. Montes Claros: Instituto de Ciências Agrárias da UFMG, 2011. Cap. 2, p. 25-34.

DYSVIK, A. *et al.* Co-fermentation Involving *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus* Species Tolerant to Brewing-Related Stress Factors for Controlled and Rapid Production of Sour Beer. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 21 fev. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00279>. Acesso em: 24 jan. 2023.

EIZAGUIRRE, J. Caracterización y domesticación de cepas naturales de *Saccharomyces eubayanus* para su aplicación en la industria cervecera. **Tese (Doutorado em Biologia) - Universidad Nacional Del Comahue Centro Regional Universitario Bariloche**, Buenos Aires, maio 2019.

ERTEN, H. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 18, n. 4, p. 377-382, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/a:1015221406411>. Acesso em: 24 jan. 2023.  
**World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 18, p. 373-378, 2002.

FLEET, G. H. **Wine Microbiology and Biotechnology**. 1ª. ed. [S.l.]: CRC Press, 1993.

FUJIWARA, Daisuke; TAMAI, Yukio. Aeration Prior to Pitching Increases Intracellular Enzymatic and Transcriptional Responses under Nonnutritional Conditions. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 61, n. 2, p. 99-104, abr. 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/asbcj-61-0099>. Acesso em: 24 jan. 2023.

GIBSON, B.R. *et al.* Comparative physiology and fermentation performance of Saaz and Froberg lager yeast strains and the parental species *Saccharomyces eubayanus*. **Yeast**, v. 30, n. 7, p. 255-266, 29 jun. 2013 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/yea.2960>. Acesso em: 24 jan. 2023.

GIBSON, B. R. *et al.* Transcription of  $\alpha$ -glucoside transport and metabolism genes in the hybrid brewing yeast *Saccharomyces pastorianus* with respect to gene provenance and fermentation temperature. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 119, n. 1-2, p. 23-31, 6 jun. 2013 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jib.66>. Acesso em: 24 jan. 2023.

GÓES-FAVONI, S. P. *et al.* Fermentação alcoólica na produção de etanol e os fatores determinantes do rendimento. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 4, p. 285-296, 23 maio 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.6008/cbpc2179-6858.2018.004.0023>. Acesso em: 16 maio 2023.

GUIMARÃES, R. R. A Química da Cerveja. **Química E Sociedade**, . 37, n. 2, p. 98-105, São Paulo, 2015.

HARRISON, J. G. *et al.* BREWERY LIQUOR COMPOSITION-PRESENT DAY VIEWS. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 69, n. 4, p. 323-331, 8 jul. 1963. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1963.tb01933.x>. Acesso em: 24 jan. 2023.

HEBLY, M. *et al.* *S. cerevisiae* × *S. eubayanus* interspecific hybrid, the best of both worlds and beyond. **FEMS Yeast Research**, v. 15, n. 3, 5 mar. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsyr/fov005>. Acesso em: 24 jan. 2023.

HEINEKEN. Heineken® Launches Limited Release New Brew, "H41," the First in New Wild Lager Exploration Series. **PR Newswire**, 2017. Disponível em: <<https://www.prnewswire.com/news-releases/heineken-launches-limited-release-new-brew->

h41-the-first-in-new-wild-lager-exploration-series-300526490.html>. Acesso em: 10 mar. 2022.

HOUGH, J. S. et al. **Malting and Brewing Science: Volume II Hopped Wort and Beer**. [S.l.]: Springer, 1982.

HUGHES, G. **Cerveja feita em casa: tudo sobre os ingredientes, os equipamentos e as técnicas para produzir a bebida em vários estilos**. 1ª. ed. São Paulo: Publi Folha, 2014.

IMAI, T.; OHNO, T. The relationship between viability and intracellular pH in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied and environmental microbiology**, v. 61, n. 10, p. 3604-3608, 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aem.61.10.3604-3608.1995>. Acesso em: 24 jan. 2023.

JACKOWETZ, J. N.; DIERSCHKE, S.; ORDUÑA, R. M. Multifactorial analysis of acetaldehyde kinetics during alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 310-316, jan. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.014>. Acesso em: 24 jan. 2023.

JUNIOR, S. L. A. **Genômica do metabolismo de maltotriose em *Saccharomyces cerevisiae*: o papel determinante do gene AGT1**. 135 p. Tese (Doutor em Biotecnologia) - Universidade De São Paulo Instituto De Ciências Biomédicas, São Paulo, 2010.

KARABÍN, M. *et al.* Enhancing the performance of brewing yeasts. **Biotechnology Advances**, v. 36, n. 3, p. 691-706, maio 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.12.014>. Acesso em: 24 jan. 2023.

KATZ, S. E. **Wild fermentation: The flavor, nutrition, and craft of live-culture foods**. [S.l.]: Chelsea Green Publishing, 2016.

KOBAYASHI, F.; ODAKE, S. Determination of the Lethal Injury on the Inactivation of *Saccharomyces pastorianus* Cells by Low-pressure Carbon Dioxide Microbubbles. **Current Microbiology**, v. 79, n. 4, 2 mar. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00284-022-02817-5>. Acesso em: 24 jan. 2023.

KOMAR, A. P. **Quais os benefícios da cerveja para a saúde? | Portal Nação Cervejeira**. 2017. Disponível em: <https://www.clubedomalte.com.br/blog/curiosidades/10-beneficios-da-cerveja/>. Acesso em: 7 jan. 2023.

KUCHARCZYK, K.; TUSZYŃSKI, T. The effect of wort aeration on fermentation, maturation and volatile components of beer produced on an industrial scale. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 123, n. 1, p. 31-38, jan. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jib.392>. Acesso em: 24 jan. 2023.

LEI, H. *et al.* Fermentation performance of lager yeast in high gravity beer fermentations with different sugar supplementations. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 122, n. 5, p. 583-588, nov. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2016.05.004>. Acesso em: 24 jan. 2023.

LEWIS, M.; YOUNG, T. W. **Brewing**. 2. ed. New York: Ed. KA/PP, 2002.

LIVENS, S. **Beer: Fermentation**. Encyclopedia of Food and Health, 2016. Disponível em: doi:10.1016/b978-0-12-384947-2.00059-3. Acesso em: 28 jan. 2023.

LOBO, A. R.; SILVA, G. M. L. Amido resistente e suas propriedades físico-químicas. **Revista de Nutrição**, v. 16, n. 2, p. 219-226, jun. 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1415-52732003000200009>. Acesso em: 16 maio 2023.

MARTINEZ, M. **Levedura. Info Escola**. Disponível em: <<https://www.infoescola.com/reino-fungi/levedura/>>. Acesso em 05 jan. 2023.

LEWIS, M. J.; YOUNG, T. W. **Brewing**. 2ª. Ed. Springer Science & Business Media, 2002.

LIBKIND, D. *et al.* Microbe domestication and the identification of the wild genetic stock of lager-brewing yeast. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 35, p. 14539-14544, 22 ago. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1105430108>. Acesso em: 24 jan. 2023.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. Produção de etanol. In: LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIMIDL, W. Biotecnologia industrial. São Paulo: Edgar Blücher, v. 3, cap. 1, p. 1-43.2001.

LIN, Y. *et al.* Factors affecting ethanol fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742. **Biomass and Bioenergy**, v. 47, p. 395-401, 2012. Disponível em: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201500155159>. Acesso em 20 jan. 2023.

LIU, Chen-Guang *et al.* Redox potential driven aeration during very-high-gravity ethanol fermentation by using flocculating yeast. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, 10 maio 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep25763>. Acesso em: 24 jan. 2023.

LIU, Xingyan *et al.* Effect of Initial PH on Growth Characteristics and Fermentation Properties of *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 4, p. M800—M808, 16 mar. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12813>. Acesso em: 24 jan. 2023.

LOVATTI, S. S.; GRIFFO, S. V.; PAES, M. F. *Saccharomyces pastorianus*. **Genética na Escola**, v. 14, n. 2, p. 116-123, 4 maio 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.55838/1980-3540.ge.2019.325>. Acesso em: 16 maio 2023.

MAEMURA, H.; MORIMURA, S.; KIDA, K. Effects of aeration during the cultivation of pitching yeast on its characteristics during the subsequent fermentation of wort. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 104, n. 4, p. 207-211, 8 jul. 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1998.tb00993.x>. Acesso em: 24 jan. 2023.

MAFRA, G. P. Análise físico-química de cerveja american lager maturada. 2018. Disponível em: [https://repositorio.ufrn.br/bitstream/123456789/38840/3/AnaliseFisicoquimica\\_Mafra\\_2018](https://repositorio.ufrn.br/bitstream/123456789/38840/3/AnaliseFisicoquimica_Mafra_2018). Acesso em: 16 maio 2023.

MAPA. **Anuário da cerveja no Brasil** - Edição 2018. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2018.

MARTINI, A. V.; KURTZMAN, C. P. Deoxyribonucleic Acid Relatedness among Species of the Genus *Saccharomyces* Sensu Stricto. **International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology**, v. 35, n. 4, Outubro 1985.

MATOS, R. A. G. Cerveja: **Panorama do Mercado, Produção Artesanal, e Avaliação de Aceitação e Preferência**. 2011. 78f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso de Agronomia. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/25472>. Acesso em 25 jan. 2023.

MONEY, N. P. *Fungi* and Biotechnology. In: \_\_\_\_\_ **The Fungi**. 3ª. ed. [S.l.]: Elsevier, 2016.

MORADO, R. **Larousse da Cerveja**. 1ª. ed. São Paulo: Alaúde Editorial, 2017.

MORI, C. D.; MINELLA, E. Aspectos econômicos e conjunturais da cultura da cevada. **Embrapa Trigo-Documents (INFOTECA-E)**, 2012. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/91355/1/2012-documentosonline-139.pdf>. Acesso em 15 mar. 2022.

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

NARENDRANATH, N. V.; POWER, R. Relationship between pH and Medium Dissolved Solids in Terms of Growth and Metabolism of Lactobacilli and *Saccharomyces cerevisiae* during Ethanol Production. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 5, p. 2239-2243, maio 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aem.71.5.2239-2243.2005>. Acesso em: 24 jan. 2023.

NASCIMENTO, D. V.; LOPES, H. A. **Monitoramento, sensoriamento e controle remoto na produção de cerveja artesanal**. TGT - Trabalhos de Conclusão de Curso – Niterói. 2018. Disponível em: <https://app.uff.br/riuff/handle/1/8060>. Acesso em: 24 jan. 2023.

NIEVOLA, D. R.; HLATAKI, I. R. Uso racional e reutilização da água nos processos cervejeiros. **Trabalho de Conclusão de Curso**, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2011.

OETTERER, M. et al. Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos. Barueri, SP: Manole, 2006.

OLAJIRE, A. A. The brewing industry and environmental challenges. **Journal of Cleaner Production**, Março 2012. Disponível em: [https://ocw.un-ih.org/pluginfile.php/3057/mod\\_folder/content/0/Brewery/Environmental\\_Challenges\\_in\\_Breweries.pdf?forcedownload=1](https://ocw.un-ih.org/pluginfile.php/3057/mod_folder/content/0/Brewery/Environmental_Challenges_in_Breweries.pdf?forcedownload=1). Acesso em: 15 mar. 2022.

- PARK, D.-H. et al. The effect of carbon dioxide, aeration rate and sodium chloride on the secretion of proteins from growing bakers' yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). **Journal of Biotechnology**, v. 2, p. 337-346, 1985.
- PARPINELLO, G. P. *et al.* Unraveling the potential of cryotolerant *Saccharomyces eubayanus* in Chardonnay white wine production. **LWT**, v. 134, p. 110183, dez. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110183>. Acesso em: 24 jan. 2023.
- PELCZAR Jr. MJ; CHAM, ECS; KRIED, NR. **Os Principais Grupos de Microrganismos Eucarióticos: Fungos, Algas e Protozoários**. In: *Microbiologia* (vol.1), pp. 260-275. Makron Books, Brasil, 1997.
- PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E. C. S. **Microbiologia**. Vol. 1. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, Cap.7, p. 141-142, 1980.
- PERISSATO, F. Elêusis no Império Romano: monumentalização do santuário e o culto dos mistérios eleusinos no Período Antonino. **Tese de Doutorado**, Universidade de São Paulo, 2018. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/002910975>. Acesso em: 03 abr. 2022.
- PIRES, E.; BRÁNYIK, T. **Biochemistry of Beer**. 1ª. ed. [S.l.]: Springer, 2015.
- POELMANS, E.; SWINNEN, J. F. M. A Brief Economic History of Beer. **The Economics of Beer**, v. 1, 2011. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20113376228>. Acesso em: 24 jan. 2023.
- PRIEST, Fergus G.; STEWART, **Graham G. Handbook of Brewing**. 2. ed. Boca Raton: Crc Press, 2006.
- RIBEIRO, L. S.; et al. Microbiological and Chemical-Sensory Characteristics of threecoffee varieties processed by wet fermentation. **Annals of microbiology**, p.705 a 718. QUINTINO, L. Brasileiro bebeu mais cerveja em 2021 mesmo sem Carnaval e festivais. **Veja**, 2022. Disponível em: <https://veja.abril.com.br/economia/brasileiro-bebeu-mais-cerveja-em-2021-mesmo-com-restricoes-sociais/>. Acesso em: 09 mar. 2022.
- REBELLO, F. D. F. P. Produção De Cerveja. **Agrogeoambiental**, v. I, n. 3, p. 145-155, Dezembro 2009.
- RIBEIRO, B. D. et al. **Microbiologia Industrial: Alimentos**. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2018.
- ROMANO, P. et al. Acetaldehyde production in *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts. **FEMS Microbiology Letters**, v. 118, p. 213-218, 1994.
- SALVADOR, D. **Mercado cervejeiro: um dos segmentos em alta no Brasil**. 10 ago. 2022. Disponível em: <https://www.gazetadopovo.com.br/gazz-conecta/papo-raiz/mercado-cervejeiro-segmentos-em-alta-no-brasil/>. Acesso em: 6 jan. 2023.
- SALIMBENI, J. F. MENEGUETTI, M. P.; ROLIM, T. F.; Caracterização da água e sua influência sensorial para produção de cerveja artesanal. 2016. p. 29. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade São Francisco, Campinas, 2016. Disponível em: <https://lyceumonline.usf.edu.br/salavirtual/documentos/2862.pdf>. Acesso em 28 jan. 2023.

SANTOS, S. P. **Os Primórdios da Cerveja no Brasil**. São Paulo: Ateliê Editorial, 2003.

SCHLENK, Fritz. Early research on fermentation — a story of missed opportunities. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 10, n. 6, p. 252-254, jun. 1985. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(85\)90145-8](https://doi.org/10.1016/0968-0004(85)90145-8). Acesso em: 24 jan. 2023.

SCHLOTTFELDT, F. S. et al. Reclasseificação taxonômica de espécies do gênero *Malassezia*: revisão da literatura sobre as implicações clinicolaboratoriais. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 38, n. 3, jul. 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1676-24442002000300006>. Acesso em: 16 maio 2023.

SERRA COLOMER, M.; FUNCH, B.; FORSTER, J. The raise of *Brettanomyces* yeast species for beer production. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 56, p. 30-35, abr. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.07.009>. Acesso em: 24 jan. 2023.

SICARD, Delphine; LEGRAS, Jean-Luc. Bread, beer and wine: Yeast domestication in the *Saccharomyces sensu stricto* complex. **Comptes Rendus Biologies**, v. 334, n. 3, p. 229-236, mar. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2010.12.016>. Acesso em: 24 jan. 2023.

SILVA, H. A.; LEITE, M. A.; PAULA, A. R. V. D. Cerveja e sociedade. Contextos da Alimentação – **Revista de Comportamento, Cultura e Sociedade**, v. 4, n. 2, p. 7, 2016.

SIQUEIRA, P.B.; BOLINI, H.M.A.; MACEDO, G.A. Beer production and its effects on the presence of polyphenols. **Alim. Nutr.**, v.19, n.4, p. 491-498, out./dez. 2008.

STEVENS, J. F., & PAGE, J. E. **Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer**: To your good health! *Phytochemistry*, 65(10), 1317–1330. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.04.025>. Acesso em 04 jan. 2023.

TORIJA, M. Effects of fermentation temperature on the strain population of *Saccharomyces cerevisiae*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 80, n. 1, p. 47-53, 15 jan. 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(02\)00144-7](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(02)00144-7). Acesso em: 24 jan. 2023.

TOSTES, L. R. M. **Instrumentação e controle do processo de produção de uma microcervejaria**. Trabalho de conclusão de curso. UFRJ. 2015. Disponível em: <http://monografias.poli.ufrj.br/monografias/monopoli10013395.pdf>. Acesso em 20 jan. 2023.

TOZETTO, L. M. Produção e caracterização de cerveja artesanal adicionada de gengibre (*Zingiber officinale*). Dissertação (Mestrado em engenharia de produção) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa. 2017. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/2451>. Acesso em: 24 jan. 2023.

VANDERHAEGEN, B. *et al.* Bioflavoring and beer refermentation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 62, n. 2-3, p. 140-150, 1 ago. 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1340-5>. Acesso em: 24 jan. 2023.

VAUGHAN-MARTINI, A.; MARTINI, A. *Saccharomyces* Meyen ex Reess (1870). In: KURTZMAN, C.; FELL, J. W.; BOEKHOUT, T. **The Yeasts: A Taxonomic Study**. 5<sup>a</sup>. ed. [S.l.]: Elsevier Science, v. 2,

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. São Paulo: Blücher, 2010.

VENTURINI FILHO, W.G. Tecnologia de Bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado. 1<sup>o</sup> ed., São Paulo: Edgard Blucher, 2005.

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

VILLALBA, María Leticia *et al*. Purification and characterization of *Saccharomyces eubayanus* killer toxin: Biocontrol effectiveness against wine spoilage yeasts. **International Journal of Food Microbiology**, v. 331, p. 108714, out. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108714>. Acesso em: 24 jan. 2023.

WALKER, G. M.; WALKER, R. S. K. Enhancing Yeast Alcoholic Fermentations. **Advances in applied microbiology**. vol. 105 (2018): 87-129. Disponível em: doi:10.1016/bs.aambs.2018.05.003. Acesso em: 24 jan. 2023.

WILLAERT, R. The beer brewing process: Wort production and beer. In: HUI, Y. H. **Handbook of food products manufacturing**. [S.l.]: John Wiley & Sons, v. 2, 2007.

WU, C.-H. et al. Effects of cultural medium and conditions on the proliferation and hypoglycemic activity of *Saccharomyces pastorianus* no. 54. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 112, n. 2, p. 159–165, 2011.

YAMAGISHI, H. et al. Role of bottom-fermenting brewer's yeast KEX2 in high temperature resistance and poor proliferation at low temperatures. **The Journal of General and Applied Microbiology**, v. 56, n. 4, p. 297-312, 2010.

ZARNKOW, M. Beer. **Encyclopedia of Food Microbiology**, p. 209-215, Abril 2014.