



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA



Instituto de Biotecnologia
Graduação em Biotecnologia

**METODOLOGIAS PARA A MANUTENÇÃO DE MICRORGANISMOS
NA PRODUÇÃO CERVEJEIRA**

SAMUEL AUGUSTO SOUSA DUARTE

UBERLÂNDIA – MG

2024

SAMUEL AUGUSTO SOUSA DUARTE

**METODOLOGIAS PARA A MANUTENÇÃO DE MICRORGANISMOS
NA PRODUÇÃO CERVEJEIRA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Biotecnologia da UFU como requisito
básico para a conclusão do Bacharelado em
Biotecnologia.

Orientador: Edgar Silveira Campos

UBERLÂNDIA – MG

2024

RESUMO

A cerveja é uma bebida amplamente conhecida e consumida, cuja produção ocorre pela fermentação do mosto cervejeiro pelas leveduras. Uma das leveduras mais utilizadas é a *Saccharomyces cerevisiae*. Para garantir uma fermentação viável e de alta qualidade, é essencial que o fermento utilizado mantenha sua estabilidade e características desejáveis. Por meio de uma revisão bibliográfica, esse trabalho analisa técnicas de manutenção de microrganismos, como a conservação em água estéril, liofilização e as técnicas de congelamento. Os resultados indicam que a liofilização é uma técnica eficiente para manter as qualidades da levedura e é ideal para cervejarias de grande porte, devido ao alto custo de equipamento. Já as técnicas de congelamento, como o uso de temperaturas a -20°C , mostram-se eficazes e com custo mais acessível, sendo uma alternativa viável para cervejarias de menor porte que não dispõem de liofilizador.

Palavras-chave: Cerveja, conservação, liofilização, leveduras.

ABSTRACT

Beer is a widely known and consumed beverage, produced by the fermentation of the brewing wort by yeast. One of the most used yeast is *Saccharomyces cerevisiae*. To ensure viable and high-quality fermentation, it is essential that the yeast used maintains its stability and positive characteristics. Through a literature review, this work analyzes techniques for microorganism maintenance, such as conservation in sterile water, freeze-drying, and freezing techniques. The results indicate that freeze-drying is an efficient technique for preserving the qualities of yeast and is ideal for large breweries due to the high cost of equipment. On the other hand, freezing techniques, such as using temperatures of -20°C , prove to be effective and more cost-accessible, making them a viable alternative for smaller breweries that do not have freeze-dryers.

Key words: Beer, preservation, lyophilization, yeast.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	6
2. JUSTIFICATIVA	7
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
3.1. História da Cerveja	7
3.2. Processo de Produção	8
3.3. Fermentação Alcóolica.....	11
3.4. Manutenção de Leveduras Cervejeiras.....	12
3.4.1 Repique Contínuo.....	13
3.4.2 Conservação em Água Estéril	13
3.4.3 Liofilização	14
3.4.4 Congelamento a -20 °C.....	15
3.4.5 Congelamento em Nitrogênio Líquido	16
4. CONCLUSÃO	17
5. REFERÊNCIAS.....	18

1. INTRODUÇÃO

A cerveja é uma bebida fermentada, obtida através da fermentação do mosto, que se obtém através de malte e água potável, leveduras e lúpulo. Há indícios que a cerveja já é uma bebida conhecida desde 8000 a.C, onde, os Sumérios, inventaram por acaso, uma bebida embriagadora. Entretanto, essa bebida, ainda, não tinha a adição de lúpulo. O *Humulus lupulus*, da família Cannabaceae foi adicionado à fermentação por cervejeiros germânicos, que observaram que o lúpulo possuía atividades antimicrobianas, portanto, conferia a cerveja um maior tempo de vida (INSTITUTO POLITÉCNICO DE BRAGANÇA, 2015).

No Brasil, a cerveja teve sua introdução acompanhada à chegada dos holandeses, no século XVII. Até então, não se observava a presença desse tipo de fermentado na cultura, visto que os colonizadores portugueses não eram ávidos consumidores da bebida e os nativos brasileiros não a conheciam. Apenas no século seguinte, a bebida foi introduzida na cultura, através da Família Real, com a popularização da cerveja inglesa (ROSA e AFONSO, 2015).

O consumo da cerveja no Brasil é alto. A Ambev, empresa brasileira responsável pela produção de várias cervejas tipo Lager, é hoje líder de mercado. No ano de 2021, teve um saldo líquido de 18,4 bilhões de reais, onde foram produzidos 4,6 bilhões de litros (AMBEV, 2021). Parte dessa enorme produção se deve ao fato de que a bebida está muito atrelada a cultura, tendo sua presença observada em várias classes sociais (SARAH BEZERRA DE ARAÚJO, 2022).

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), com dados presentes no Anuário da Cerveja de 2021, a variedade de cervejas nas prateleiras brasileiras é muito positiva. Foram registrados, no ano de 2021, 35.741 produtos, o que representa um aumento de 306%, quando comparado ao ano de 2007. Ainda, de acordo com o MAPA, no ano de 2021 o Brasil atingiu a marca de 1549 cervejarias registradas, representando um aumento de 12% em relação ao ano de 2020 (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2021; SARAH BEZERRA DE ARAÚJO, 2022).

O tipo de cerveja mais consumida e produzida no Brasil, é o tipo Lager, que representa quase 98% do consumo da bebida fermentada. Esse grande nível de consumo se deve a adequação do paladar do consumidor, visto que esse tipo de

cerveja pode ser consumido em temperaturas mais baixas, o que agrada o consumidor final (REBELLO, 2009). Entretanto, o tipo Lager não é o único. No Brasil, as cervejas alcólicas são divididas em Lager e Ales, sendo distinguidas, majoritariamente, pelo tipo de fermentação, baixa e alta, respectivamente (ROSA e AFONSO, 2015).

Os microrganismos da cerveja, além de seres responsáveis pela fermentação, são responsáveis também por mudanças organolépticas no fermentado, de forma que mais de um microrganismo pode ser utilizado para o processo produtivo. Mundialmente o microrganismo mais utilizado é o *Saccharomyces cerevisiae* (DRAGONE e colab., 2008; NAYARA ALINE MUNIZ DE OLIVEIRA, 2011).

2. JUSTIFICATIVA

Devido a importância da etapa de fermentação na produção de cerveja, o fermento utilizado, seja ele em que forma for, necessita de estabilidade para que o produto seja de alta qualidade. Dessa forma, a manutenção da levedura pode levar a custos mais baixos de produção e também ocasionar em uma produtividade e fermentação de maior qualidade. Nesse sentido, o trabalho busca avaliar e elucidar as técnicas já existentes, observando quais métodos continuam eficientes, quais métodos são indicados para a produção cervejeira, comparando-os entre si, contribuindo com uma otimização do processo de manufatura de cerveja.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. História da Cerveja

A cerveja é uma bebida fermentada datada de mais de 6000 anos. Historicamente, o seu surgimento está relacionado com os povos sumérios, que ocupavam uma região, hoje, ao sul do Iraque. O seu descobrimento foi dado por acaso, quando foi observado que os cereais, quando fermentados, produziam um líquido de sabor agradável e embriagante (BICALHO PIMENTA e colab., 2020).

Muito provavelmente a cerveja foi distribuída ao longo da Eurásia por meio de mercadores e navegantes. Porém, existem evidências da produção de cerveja na Escócia, por volta de 4000 anos atrás, o que implica que os europeus podem

ter desenvolvido uma forma diferente de produção quando comparada aos sumérios (SILVA e colab., 2016).

O lúpulo teve sua primeira introdução datada na cerveja em 822, em um livro de receitas para monges. Entretanto, a sua popularização se deu anos depois, quando navegadores comerciantes descobriram que além de conceder um aroma e sabor diferenciado a cerveja, o lúpulo ainda era capaz de conservá-la por mais tempo (SILVA e colab., 2016).

Em Munique, 1516, era aprovada pelo Duque Guilherme IV a Lei de Pureza alemã, um regulamento que restringia a produção de cerveja e seus ingredientes. Essa norma permitia apenas, cevada, lúpulo e água na produção de cerveja. Futuramente, a levedura seria adicionada à essa lei. O motivo para a criação da Lei de Pureza era restringir o uso de trigo na produção da bebida, já que esse mesmo grão era essencial na produção de alimentos como o pão (BICALHO PIMENTA e colab., 2020).

Já no Brasil, a implantação de cervejarias se deu apenas no início do século XIX, com uma demanda regional, sendo essa fomentada também pelos imigrantes europeus. Já no final do século, eram fundadas em 1885 e 1888, respectivamente, as cervejarias Antártica Paulista e a Brahma. Em 1998, com resultado da união das duas empresas é então criada a Companhia de Bebidas das Américas – Ambev (ROSALIN, 2020).

Os dados apresentados pela CervBrasil (Associação Brasileira da Indústria da Cerveja), mostram que a produção nacional de cerveja equivale a 1,6% do Produto Interno Bruto (PIB) nacional, representando um faturamento de 107 bilhões de reais ao ano. Dados de 2024 mostram que o estado de São Paulo possui 410 cervejarias, representando um crescimento anual de 5,9% quando comparado ao ano anterior (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E AGROPECUÁRIA, 2024).

3.2. Processo de Produção

O processo de produção da cerveja é regulamentado pelo decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, que categoriza a cerveja como uma bebida consumível obtida através da fermentação do mosto cervejeiro e água, com a adição de lúpulo e utilizando-se leveduras capazes de induzir o processo fermentativo. A

legislação brasileira não aprova a utilização de corantes, flavorizantes e edulcorantes, sendo necessário, além disso, a estabilização, que deve ser feita por processos físico-químicos como a pasteurização, criando assim, um padrão de qualidade necessário para sua comercialização (BRASIL, 2009).

As cervejas podem ser classificadas a partir de sua cor, local de origem, tipo de fermentação, mosto utilizado, entre outros. Entretanto, cervejas do mesmo tipo ainda sim podem apresentar diferenças sensoriais, já que são muitas as variantes capazes de alterar as sensações organolépticas do produto. Porém, a divisão mais comum são as leveduras de alta e baixa fermentação (SINDICERV, 2024).

No Brasil, o tipo de cerveja mais consumido e produzido são as do tipo Lager, sendo o tipo Pilsener mais difundido. A cerveja Pilsener é conhecida pelo seu médio teor alcoólico, variando de 3% a 5%. Essa cerveja é produzida pela levedura de baixa fermentação, que quando exposta a uma temperatura de 9° a 14°C, se depositando ao fundo do tanque e após a fermentação. Tal categoria de cerveja tem seu consumo amplamente distribuído no Brasil dado ao seu sabor mais leve, podendo ser consumida próxima a temperatura de congelamento (SINDICERV, 2024; BORTOLI e colab., 2013).

Existem ainda o tipo Ale, conhecido também como cerveja de alta fermentação. As leveduras de alta fermentação tem como característica sua ativação em altas temperaturas, variando de 20° até 25°C. São chamadas de leveduras de alta fermentação devido a sua distribuição no topo do tanque, criando uma espuma chamada "Krausen". Devido ao longo tempo de formação, permite-se a concentração de ésteres, responsáveis pelas características organolépticas como textura e sabores complexos (BORTOLI e colab., 2013).

Durante sua produção, seja a nível industrial ou a nível artesanal, são utilizadas cepas de leveduras ascomicetas que promovem a fermentação. São utilizadas duas cepas: a espécie *S. uvarum* e a espécie *S. cerevisiae*. Apesar de capaz de produzir dióxido de carbono e etanol, a espécie *S. uvarum* não é muito utilizada no Brasil, sendo a *S. cerevisiae* mais estudada e utilizada (BORTOLI e colab., 2013).

As etapas de produção da cerveja se categorizam em moagem do malte, mosturação, filtragem, fervura, fermentação, maturação e envase (REBELLO, 2009).

Ao primeiro processo, o grão que será utilizado, sejam eles grãos de cevada ou de outros cereais, passa pela moagem, onde o objetivo é diminuir o tamanho dos grãos, facilitando a hidrólise do amido (BICALHO PIMENTA e colab., 2020). O resultado dessa moagem devem ser grãos não muito pequenos, que prejudicam a filtração do mosto e nem grãos muito grandes, que atrapalhem a hidrólise do amido (BORTOLI e colab., 2013).

Já a mosturação compreende na adição do mosto previamente moído com água em temperatura controlada. Essa etapa tem como objetivo promover a gomificação e a consequente hidrólise do amido em açúcares, que posteriormente serão utilizados pela levedura no processo de fermentação (BORTOLI e colab., 2013). A função da filtragem é separar o líquido rico em açúcares do bagaço da cevada, que pode ser reutilizado para produção de ração animal ou até mesmo utilizado para produção de alimentos para o consumo humano, representando um bom lucro de reaproveitamento para as cervejarias (REBELLO, 2009).

Já a fervura representa o processo de esterilização do caldo do mosto. A função dessa etapa é controlar os microrganismos presentes no mosto utilizando o método de fervura à 100°C. Durante esse processo, há a coagulação das proteínas que se precipitam em forma de flocos. Somada a adição de lúpulo, que é utilizado para dar estabilidade e amargor, sendo adicionado geralmente ao final do processo (BICALHO PIMENTA e colab., 2020). Segundo Bortoli *et. al* (2013), a adição de lúpulo pode ser feita duas vezes, uma vez no início da fervura e outra vez no final. Entretanto, é preferível que o acréscimo seja feito ao final da fervura, evitando assim a volatilização de seus óleos essenciais.

Terminada a fervura, esse precipitado coagulado chamado de *Trub* passa por um processo de separação, seja ele por filtragem ou por decantação. O mosto então passa por um processo de resfriamento até a temperatura ideal para a fermentação, que é de 7° a 15° para cervejas do tipo Lager e de 18° a 22° para as do tipo Ale. Nessa fase o mosto também passa por um processo chamado aeração, que visa aumentar a quantidade de O₂ disponível no meio (BORTOLI et al., 2013).

A fermentação, etapa mais importante do processo de produção de cerveja, é onde acontece a transformação do mosto na bebida que será consumida, tudo isso com a ajuda de leveduras capazes de transformar a glicose presente no meio

em gás carbônico e etanol. A fermentação pode ser dividida em dois tipos: A alta fermentação, que ganha esse nome pois as leveduras tendem a se situar na parte superior do fermentador ou a baixa fermentação, onde as leveduras se situam na parte inferior do tanque (BORTOLI e colab., 2013). Para cada tipo de fermentação existe uma faixa de temperatura ideal para a sua completa operação. O mosto deve ser resfriado a temperaturas em torno de 7° a 15°C para cervejas de baixa fermentação, como as Lagers, e a temperaturas mais altas para as cervejas de alta fermentação, sendo a faixa ideal de temperatura entre 18° a 22°C (BICALHO PIMENTA e colab., 2020).

Esse líquido que passou pela fermentação primária é chamado de cerveja verde pois ainda não passou pelo processo de maturação. A etapa de maturação é onde ocorre a fermentação secundária, onde os carboidratos residuais são consumidos pelas leveduras remanescentes, o que concede melhorias sensoriais, como aroma, textura, sabor e carbonatação (BORTOLI e colab., 2013). A cerveja então pode ser envazada e passar pelo processo de pasteurização à uma temperatura de 60°, que visa a eliminação dos possíveis microrganismos presentes na cerveja que podem causar sua deterioração (REBELLO, 2009).

3.3. Fermentação Alcólica

A fermentação é, sem dúvidas, o processo que mais se demanda atenção durante a produção de cerveja. A fermentação acontece devido a presença de açúcares no mosto, como a glicose, sacarose e frutose. Esses açúcares fornecerão nutrientes o suficiente para que a fermentação ocorra (BICALHO PIMENTA e colab., 2020).

Após a fervura, o mosto é colocado no resfriador até que alcance a faixa de temperatura ideal para o tipo de cerveja que se quer obter. A temperatura ideal para cervejas de baixa fermentação é entre 12 a 15°C, e para cervejas de alta fermentação é entre 14° a 25°. Então é adicionado a levedura de *Saccharomyces cerevisiae* (BICALHO PIMENTA e colab., 2020).

A levedura *S. cerevisiae* possui uma característica viável de ajuste metabólico, onde pode ser ativada na presença ou ausência de oxigênio. Na

presença de oxigênio, uma porção da glicose é transformada em CO₂ e água, enquanto na ausência de oxigênio, boa parte da glicose é consumida e convertida em gás carbônico e etanol. Dentro de um tanque de fermentação, a levedura, por sua rota biológica aeróbica, consome todo o oxigênio presente para a proliferação de novas células (BORTOLI e colab., 2013).

Após consumir boa parte do amido presente no mosto e do oxigênio no tanque, a levedura começa a rota biológica de fermentação alcoólica para a produção de etanol. De acordo com a cepa de levedura utilizada e das condições submetidas, o teor alcoólico e as características organolépticas da bebida fermentada podem ser distintos (REBELLO, 2009).

3.4. Manutenção de Leveduras Cervejeiras

As leveduras cervejeiras e sua adição para a fermentação constituem o procedimento mais importante de todo o processo produtivo, seja ele a nível artesanal ou industrial. É visível que a preservação *ex situ* para a produção de cerveja se torna, de maneira crucial, uma fonte de gastos que tem como sua intenção o controle microbiológico e a sobrevivência das culturas escolhidas (SOLA e colab., 2012).

A escolha do protocolo a ser usado não se baseia apenas na sobrevivência dos organismos, mas também da preservação de sua funcionalidade e de seu metabolismo, de forma que a ação de manutenção e de preservação não cause mutações ou variabilidade. No entanto, não existem técnicas universais de conservação (SOLA e colab., 2012).

Diante disso a indústria de produção de bebidas fermentadas como a cerveja e o vinho utilizam de artifícios para a manutenção e conservação das cepas de microrganismos que são utilizadas por eles ao longo do processo produtivo. Muitas são as técnicas utilizadas para preservar ascomicetos como *Saccharomyces cerevisiae*, como o repique contínuo e a preservação em água estéril. Entretanto, a indústria opta por processos mais seguros e de longa duração, como a liofilização, o congelamento e a criopreservação em nitrogênio líquido (SOLA e colab., 2012).

3.4.1 Repique Contínuo

O repique contínuo é uma técnica bem empregada e utilizada para a manutenção de microrganismos. Por ser uma técnica simples e necessitar de poucos materiais, é utilizada não só por laboratórios, mas também por microcervejarias, com o intuito de manter a estabilidade e conservar o microrganismo com o intuito de utilizá-lo no processo produtivo e estudá-lo (SOLA e colab., 2012).

Essa técnica consiste na retirada de uma determinada quantidade de x'microrganismo para ser transferida para um tubo de ensaio ou placa de Petri. O novo meio de cultura fornecerá substrato necessário para o crescimento da cepa. Dessa forma, é necessário que o repique seja feito antes que o meio de cultura original seja consumido completamente ou se desidrate. E ainda, ao fazer o repique, a alternância do meio de cultura entre um meio mais nutritivo e um menos nutritivo, propicia uma melhora na viabilidade (SOUSA e colab., 2017).

Para a conservação do microrganismo após o processo é necessário armazenamento em baixas temperaturas, para que o metabolismo da cepa em questão diminua. Para sua manutenção é necessário testes periódicos de viabilidade e a troca do meio de cultura a cada 3 meses, pois durante a conservação pode acontecer contaminação ou secagem do meio, tornando assim a cultura inutilizável (SOLA e colab., 2012).

Ainda assim, essa técnica apresenta uma ótima opção para culturas que serão utilizadas em até 12 meses, apresentando um baixo custo de manutenção, embora seja preferível escolher culturas mais novas, visto que a conservação de culturas velhas pode acarretar numa variação de qualidade (SOLA e colab., 2012).

3.4.2 Conservação em Água Estéril

A conservação em água estéril é uma técnica antiga, também conhecida como Método de Castellani, que consiste no emprego de água destilada ou solução salina para a manutenção e conservação de cepas de microrganismos para posterior estudo. Essa técnica geralmente é executada utilizando-se o meio de cultura e o fungo inseridos em um recipiente, onde é adicionado uma solução

de água estéril e é deixada sobre temperatura ambiente para conservação (CARNEIRO, 2018).

Esse método tem como vantagem a ausência do ataque de ácaros, baixo custo de processo e a capacidade de se armazenar em temperatura ambiente. Entretanto essa técnica requer monitoramento frequente devido a evaporação da água (CARNEIRO, 2018).

Apesar do baixo custo, essa técnica só pode ser executada com culturas que possuem boa aderência ao meio de cultura ágar, característica essa que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* possui.

3.4.3 Liofilização

A liofilização da levedura *Saccharomyces* é um artifício de conservação altamente utilizado pela indústria, visto que esse tipo de procedimento tem a capacidade de preservar o material genético do organismo por muito tempo, mantendo sua estabilidade e garantindo as características nutricionais. Tal método, além de eficiente e seguro, oferece reduções de custo de transportes, visto que o fermento seco permite um armazenamento e transporte mais simples e barato (SOLA, 2012).

O processo de liofilização pode ser dividido em etapas, onde o início do procedimento é congelar o fermentado em ultra freezer a temperaturas inferiores a -50°C por um período de 12h. O procedimento posterior ao congelamento é a desidratação. A desidratação por liofilização consiste em introduzir a amostra microbiológica congelada em uma câmara de vácuo, onde é submetida a baixas pressões, que por sua vez induz a evaporação da água em temperaturas muito baixas e sem a presença de oxigênio. Dessa forma, ao reduzir a atividade de água (A_w) da levedura, sua estabilidade é garantida por um longos prazos de tempo (FRANCA e PRADA, 2019).

A liofilização é um processo demorado, em alguns casos, podendo demorar várias horas para ser concluído, dependendo da quantidade de levedura a ser liofilizada. Após a liofilização, a quantidade de leveduras viáveis reduz drasticamente, entretanto, as células que sobreviveram ao processo mecânico de congelamento e sublimação possuem uma estabilidade muito alta, podendo

ser guardada por anos sob condições ideais de estocagem (FRANCA e PRADA, 2019).

A trealose endógena é uma substância produzida por leveduras do gênero *Saccharomyces* que ajuda na sobrevivência e viabilidade celular durante eventos de estresse, como o aumento repentino da temperatura. Alcarde *et al* (1997) citam que leveduras que passaram por um tratamento com trealose antes do processo de liofilização apresentam maior viabilidade do que aquelas que não passaram pelo tratamento. Entretanto, outro estudo buscou avaliar a trealose e a glicose como citoprotetores e crioprotetores para o processo de liofilização, porém, nenhum dos tratamentos utilizados foi efetivo para a preservação e conservação da viabilidade de cepas de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* (FREITAS e colab., 2020).

Um estudo realizado por Miyamoto e colab (2000) buscou avaliar a viabilidade de microrganismos gram-positivos e gram-negativos após o processo de liofilização. Foi constatado no estudo que os microrganismos gram-positivos tiveram maior taxa de sobrevivência, talvez devido as suas características celulares que os tornam únicos. Da mesma forma, foi observado que algumas células após a liofilização são capazes de sobreviver por até 15 anos sobre estocagem correta.

Portanto, a liofilização, como um método de manutenção, possui muitos pontos positivos, como a facilidade no transporte e armazenamento, que podem ser feitos a temperatura ambiente, e garante a viabilidade celular da cepa utilizada. Apresenta como pontos negativos o alto custo de operação e manutenção de equipamentos, não sendo uma técnica muito recomendada para micro cervejarias (SOLA e colab., 2012).

3.4.4 Congelamento a -20 °C

Técnicas de manutenção de leveduras como o congelamento a -20° C podem ser viáveis devido ao seu baixo custo, sendo uma técnica utilizada por muitas cervejarias para o armazenamento de suas cepas. Essa técnica consiste na

estocagem de cepas de leveduras a temperaturas ente -4° e -20°C . (CRISTINA SOLA e colab., 2012).

Apesar de baixo custo, esse tipo de método pode oferecer riscos a estrutura celular da levedura, dado ao fato que o congelamento pode ocasionar a formação de cristais que podem acabar rompendo a membrana celular (CARNEIRO, 2018). Para que a eficiência desse método seja garantida, é necessário a utilização de crioprotetores. Tais substâncias são responsáveis pelo aumento da osmolaridade do meio externo, prevenindo a formação de cristais de gelo. (CALDAS e CASTRO E SILVA, 2015).

Um estudo realizado por Silva *et al.* (2008), utilizou o congelamento a -20°C como método de conservação, utilizando as leveduras congeladas para teste de viabilidade após certo tempo. Foi observado que após 36 meses, das 328 unidades formadoras de colônia, 99% foram recuperadas, e após um período de 48 meses, foi possível uma recuperação de 90,6%. Portanto, o método de congelamento é extremamente viável devido ao seu baixo custo e a capacidade de conservar boa parte da levedura por 4 anos.

3.4.5 Congelamento em Nitrogênio Líquido

O congelamento em nitrogênio líquido é uma técnica extremamente eficiente, porém, devido ao seu alto custo de manutenção e de instalação, se torna uma técnica pouco utilizada pela indústria, sendo mais encontrado em laboratórios para conservação não apenas de leveduras, mas de muitos materiais biológicos e organismos (CÂMARA e SANT'ANA, 2021).

O protocolo da técnica consiste em um congelamento gradativo, onde a amostra é colocada a princípio em um freezer comum, depois a -80°C e posteriormente, adicionado ao tanque de nitrogênio líquido. A partir desse procedimento, ainda com a ajuda de um crioprotetor, a amostra pode ser conservada por mais de 10 anos (CRISTINA SOLA e colab., 2012).

Essa técnica apresenta alta estabilidade devido a temperatura muito baixa no sistema, o que impede o metabolismo das células em questão. Utilizando-se de baixas temperaturas, essa técnica apresenta os mesmos problemas de outras

técnicas que também utilizam o congelamento como parte do processo de manutenção (CÂMARA e SANT'ANA, 2021). A formação de cristais durante o congelamento pode influenciar num possível rompimento da célula, eliminando sua viabilidade. Por isso, é necessário a utilização de crioprotetores como a glicose, o dimetilsulfóxido (DMSO) e a lactose, que conferem resistência à célula quando colocada sobre congelamento. Os crioprotetores são capazes de penetrar o material celular, induzindo o aumento da osmolaridade do meio externo, prevenindo a formação de cristais de gelo durante o tratamento (CALDAS e CASTRO E SILVA, 2015).

4. CONCLUSÃO

Vários são os métodos utilizados para a conservação e manutenção das leveduras, tentando preservar ao máximo suas características metabólicas e organolépticas.

Leveduras submetidas a liofilização tem uma taxa de recuperação baixa, entretanto, suas características metabólicas se mantêm, sendo esse uma ótima forma de conservação para cervejarias grandes que trabalham com tanques de litragens superiores e não necessitam da fabricação de cervejas sazonais.

Cervejas de pequeno porte podem também utilizar leveduras liofilizadas, mas a conservação em temperaturas baixas pode ter um custo mais baixo e é capaz de garantir a manutenção metabólica do microrganismo por muito tempo, sendo ideal para o armazenamento de cepas responsáveis pela produção de cervejas sazonais.

Entretanto, se faz necessário o desenvolvimento de novos experimentos que buscam entender o funcionamento dos métodos de conservação sobre a *Saccharomyces cerevisae*, visto que não existem muitas literaturas que tratam dos métodos de manutenção nessa levedura específica.

5. REFERÊNCIAS

AMBEV bate recorde de produção e lucro sobe 57,4% sobre o ano passado. O Especialista, [S. l.], p. 1-2, 28 out. 2021. Disponível em: Ambev bate recorde de produção e lucro sobe 57,4% sobre o ano passado. Acesso em: 1 fev. 2023.

BICALHO PIMENTA, Larissa e colab. **A história e o processo da produção da cerveja: uma revisão**. Cadernos de Ciência & Tecnologia, v. 37, n. 3, p. 26715, 25 Nov 2020.

BORTOLI, Daiane A. da S. e colab. **Leveduras e produção de cervejas-Revisão**. . [S.l: s.n.], 2013.

CALDAS, Cirlene da Cunha e CASTRO E SILVA, Dulcilena de Matos. **Desafios na Criopreservação de Leveduras**. . [S.l: s.n.], 2015.

CÂMARA, Antonio A e SANT'ANA, Anderson S. **Advances in yeast preservation: physiological aspects for cell perpetuation**. Current Opinion in Food Science, v. 38, p. 62–70, Abr 2021.

CARNEIRO, Luciana Simão. **PRESERVAÇÃO DE CULTURAS DE FUNGOS DO GÊNERO Escovopsis**. . [S.l: s.n.], 2018. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/368ad805-35a5-488a-a313-da3d2f7718ca/content>>. Acesso em: 28 set 2024.

DRAGONE, Giuliano e colab. **Revisão: Produção de Cerveja: Microrganismos Deteriorantes e Métodos de Detecção**. Braz. J. Food Technol. [S.l: s.n.], 2008.

FRANCA, Tamires e PRADA, Marcos Henrique. **Caracterização dos nutrientes presentes em levedura (saccharomyces cerevisiae) submetida a liofilização**. . [S.l: s.n.], 2019. Disponível em: <<http://fatecpiracicaba.edu.br/revista/index.php/bioenergiaemrevista/article/view/302>>. Acesso em: 17 set 2024.

FREITAS, Andressa Barella De e colab. **Ação dos crioprotetores glicose, trealose e quitosana na manutenção da viabilidade de células de Escherichia coli, Saccharomyces cerevisiae após liofilização.** Ciência Animal Brasileira, v. 21, 2020.

INSTITUTO POLITÉCNICO DE BRAGANÇA. **Jornada de Lúpulo e Cerveja.** Jornada de Lúpulo e Cerveja, 2015.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E AGROPECUÁRIA. **Anuário da Cerveja 2024.** 2024.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, Pecuária e Abastecimento. **Anuário da Cerveja 2021.** . Brasília: [s.n.], 2021.

NAYARA ALINE MUNIZ DE OLIVEIRA. **Leveduras utilizadas no processo de fabricação de cerveja.** . Belo Horizonte: [s.n.], 2011.

REBELLO, Flávia De Floriani Pozza. **Produção de cerveja.** Revista Agrogeoambiental, v. 1, n. 3, 1 Dez 2009.

ROSALIN, João Paulo. **A Trajetória da Cerveja no Brasil: uma Proposta de Aproximação com a Teoria da Sucessão dos Meios Geográficos.** GEOGRAFIA (Londrina), v. 30, n. 1, p. 149, 30 Dez 2020.

ROSA, Natasha Aguiar e AFONSO, Júlio Carlos. **A Química da Cerveja.** Química Nova na Escola, v. 37, n. 2, 2015.

SARAH BEZERRA DE ARAÚJO. **Cerveja e pandemia: um estudo sobre as estratégias de branding de cervejas mainstream e artesanais nos anos de 2020 e 2021.** . [S.l: s.n.], 2022.

SILVA, Hiury Araújo e colab. **Cerveja e sociedade.** Cultura e Sociedade. [S.l: s.n.], 2016.

SOLA, Marília Cristina e colab. **MANUTENÇÃO DE MICRORGANISMOS: CONSERVAÇÃO E VIABILIDADE.** . [S.l: s.n.], 2012.

SOUSA, Bruna Rodrigues De e colab. **TÉCNICAS DE OBTENÇÃO, MANUTENÇÃO E REATIVAÇÃO DE CULTURAS MICROBIANAS**. *Journal of Medicine and Health Promotion*, v. 2, n. 4, p. 827–842, 2017.