

# UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE TECNOLOGIA DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA

IZA MARIA GOMES DOS SANTOS

# PRINCIPAIS IMPACTOS NA QUALIDADE DA FERMENTAÇÃO CERVEJEIRA

João Pessoa 2021

# UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA ENGENHARIA QUÍMICA

#### **IZA MARIA GOMES DOS SANTOS**

# PRINCIPAIS IMPACTOS NA QUALIDADE DA FERMENTAÇÃO CERVEJEIRA

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal da Paraíba como requisito à obtenção do grau de Engenheira Química.

Orientador: Prof. Genaro Zenaide Clericuzi

#### **IZA MARIA GOMES DOS SANTOS**

# PRINCIPAIS IMPACTOS NA QUALIDADE DA FERMENTAÇÃO CERVEJEIRA

Relatório final, apresentado à Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Engenheira Química.

João Pessoa – Paraíba, 03 de dezembro de 2021.

#### **BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Genaro Zenaide Clericuzi - DEQ

Me. Rafael Batista Aquino - DEQ

Dr. Franklin Pessoa Agutar - DEQ

#### **AGRADECIMENTOS**

"Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois, o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar. ' (Josué 1:9). E não haveria outro modo de iniciar meus agradecimentos senão agradecendo a Ele, principalmente por ter permitido chegar até aqui. Gostaria de agradecer imensamente e dedicar todos os meus esforços a aqueles que sempre me apoiaram e acreditaram em meus sonhos, possibilitando tornar em realidade minhas ambições acadêmicas e profissionais, aos meus pais toda a minha gratidão. Agradeço e dedico também a conclusão deste trabalho e do curso aos meus avós que tanto me ensinaram, e deixar registrado que esta conquista é especialmente dedicada à minha avó Francisca, que tanto sonhou com este momento, mas que agora acompanha do lado do nosso Senhor a minha vitória. Ao meu irmão Alex, meu muito obrigada por diversas vezes ter tornado a caminhada mais simples e me apoiado em momentos difíceis. Aos irmãos que a vida me presenteou, Bosco e Athyla, meu muito obrigada por cada suporte e todo carinho. Aos meus amigos que dividiram toda a caminhada ao meu lado tornando o caminho mais leve e divertido meus sinceros agradecimentos. E por fim, em nome do meu querido orientador Genaro Clericuzzi, agradeço imensamente a todos aqueles que verdadeiramente doaram tempo e conhecimento moldando minha trajetória acadêmica e marcando para sempre a minha história como profissional, obrigada por tudo, professores. Que a conclusão deste trabalho seja apenas o início de uma bela história.

#### **RESUMO**

A cerveja, classificada como bebida alcoólica fermentada, é uma das bebidas mais consumidas do mundo, ocupando uma posição importante no mercado econômico do Brasil. Com a expansão da produção deste líquido as buscas por processos mais eficientes com qualidade percebida pelos consumidores crescem a cada dia, estabelecendo uma série de estudos do processo produtivo. Uma das etapas mais críticas do processo cervejeiro é a fermentação, dado que os produtos e subprodutos do metabolismo das leveduras são formados nesta etapa implicando na formação do perfil organoléptico da cerveja. O conhecimento de todos os detalhes pertinentes a fermentação é essencial para que se estabeleçam parâmetros adequados de operação, e a partir da compreensão das principais variáveis que influenciam esta etapa facilitar o desenvolvimento de monitoramento e controle da eficiência do processo fermentativo, e consequentemente da qualidade final da cerveja.

Palavras-chave: Cerveja, perfil organoléptico, fermentação, levedura cervejeira, qualidade.

#### **ABSTRACT**

Beer, labeled as a fermented alcoholic beverage, is one of the most consumed beverages in the world, occupying an important position in the Brazilian economic market. With the expansion of the production of this liquid, the search for more efficient processes with quality perceived by consumers grows every day, establishing a series of studies on the production process. One of the most critical stages of the brewing process is fermentation, as the products and by-products of yeast metabolism are formed in this stage, implying the formation of the beer's sensory profile. Knowledge of all details relevant to fermentation is essential to establish adequate operating parameters, and from the understanding of the main variables that influence this step, facilitate the development of monitoring and control of the efficiency of the fermentation process, and consequently of the final quality of beer.

**Keywords:** Beer, sensory profile, fermentation, beer yeast, quality.

### **LISTA DE FIGURAS**

FIGURA 1 RESUMO DO PROCESSO CERVEJEIRO	19
FIGURA 2 ESTRUTURA DO GRÃO DE CEVADA	20
FIGURA 3 ESTRUTURA DE MOINHO DE ROLOS	21
FIGURA 4 ESQUEMA REPRESENTATIVO DO MOINHO MARTELO	21
FIGURA 5 ESQUEMA REPRESENTATIVO DA TINA FILTRO.	24
FIGURA 6 ESQUEMA REPRESENTATIVO DO FILTRO PRENSA	25
FIGURA 7 FLUXOGRAMA DA SALA DE BRASSAGEM	26
FIGURA 8 ESQUEMA DE UM TROCADOR DE CALOR DE PLACAS	27
FIGURA 9 ESQUEMA DAS FASES DE FERMENTAÇÃO	30
FIGURA 10 FLUXOGRAMA DE PRODUÇÃO DE CERVEJA	
FIGURA 11 ESTRUTURA GERAL DE UMA CÉLULA DE LEVEDURA	
FIGURA 12 ETAPAS DO PROCESSO DE BROTAMENTO	38
FIGURA 13 RELAÇÕES ENTRE AS MAIORES CLASSES DE COMPOSTOS AROMÁTICOS DERIVADOS DO	
METABOLISMO DA LEVEDURA	43

### **LISTA DE TABELAS**

TABELA 1 COMPOSIÇÃO MÉDIA DO LÚPULO	.18
TABELA 2 PERFIL AROMÁTICO DOS ÉSTERES	.45

## Sumário

1	INTRO	DUÇÃO	10
	1.1. O	BJETIVOS GERAIS	12
	1.2. O	BJETIVOS ESPECÍFICOS	12
2	REVIS	ÃO BIBLIOGRÁFICA	12
	2.1. M	IATÉRIAS PRIMAS	12
	2.1.1.1		
	2.1.1.2		
	2.1.1.3		15
	2.1.1.4		
	2.1.1.5		
		ROCESSO PRODUTIVO	
	2.2.1.1		
	2.2.1.2	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
	2.2.1.3	3 - 3 - 3 - 3 - 3 - 3 - 3 - 3 - 3 - 3 -	
	2.2.1.4		
	2.2.1.5		
	2.2.1.6 2.2.1.7		
	2.2.1.7 2.2.1.8	3	
	2.2.1.0	j	
	2.2.1.3	,	
	2.2.1.1		
_		CIPAIS IMPACTOS DE QUALIDADE NA FERMENTAÇÃO	
3		-	
		EVEDURA CERVEJEIRA	
		IOQUÍMICA DA FERMENTAÇÃO	
	3.2.1.1	, '	
	3.2.1.2	, 0	
	3.2.1.3		
	3.2.1.4		
	3.2.1.5		
	3.2.1.6		
		ISTEMAS DE FERMENTAÇÃO	
	3.4. G	ERENCIAMENTO DA FERMENTAÇÃO	49
4	CONSI	IDERAÇÕES FINAIS	51
P	FFFRÊNC	PAC	52

# 1 INTRODUÇÃO

A cerveja, uma das bebidas mais antigas e consumidas do mundo provavelmente surgiu ainda na Idade da Pedra, no Oriente Médio, proveniente do armazenamento de cereais como o trigo e a cevada em contato com água, o que provocava a germinação dos grãos, e submetido ao calor, acarretava a liberação dos açúcares e posteriormente a fermentação natural, gerando álcool e CO2. Mesmo que de forma acidental, estas foram as primeiras versões de cerveja (STANDAGE, 2005 apud ZAGO, 2018, p. 12), e por desconhecimento do processo fermentativo, em algumas culturas, a bebida foi atrelada como bebida divina e mitológica. O nome cerveja, vem do latim *cerevisia*, deriva de Ceres, a deusa da colheita e da fertilidade, e *vis*, derivado de força (MORADO, 2009 apud ZAGO, 2018, p. 12).

A história da cerveja tem sua origem de forma imprecisa mas existem evidências de registros escritos na Suméria por volta de 3400 a.C., em documentos como listas de pagamento e recibos de impostos. Esses documentos eram fichas destinadas a contabilidades de valores que incluíam grãos, pães e cerveja, comprovando o consumo como parte da dieta alimentar e forma de pagamento. Até aquele momento a bebida era produzida de forma caseira, mas em 500 a.C. encontram-se registros de produção artesanal em mosteiros, e a partir do século VI a consolidação da produção nestes locais para atender o crescimento do consumo nos centros consumidores na Europa (MORADO, 2009 apud ZAGO, 2018, p. 12). O primeiro uso de lúpulo na produção da cerveja foi atribuído a monja Hildergard von Bingen, já no século XII, que anos depois, em 1966, teve seu nome atrelado e homenageado na cerveja Hoegaarden, pela inovação da adição do lúpulo e adjuntos como sementes e raspas de frutas.

A variedade de estilos produzidos (sabores, aromas, coloração) é proveniente da diversidade de ingredientes e métodos de produção, o que evidencia uma capacidade praticamente inigualável dessa bebida em relação a outros tipos de bebidas fermentadas.

Com o passar dos anos e o crescimento do comércio, a cerveja expande-se das produções monásticas e descentraliza-se pelo mundo. Em 1516 nasce a Lei Alemã da Pureza a fim de controlar os preços e tributações da bebida, instituindo em algumas regiões Alemãs que a composição deveria ser água, cevada e lúpulo, criando-se assim uma nova configuração de receita, tornando-se marco na história da cerveja. A partir deste movimento passou a difundir tal configuração como receita padrão da bebida, originando o estilo mais popular e consumido do mundo: cerveja clara e carbonatada, denominada Pilsen.

O salto quantitativo e qualitativo na produção de cerveja durante os séculos XVIII e XIX foi, em sua maior parte, resultado da aplicação de princípios científicos que facilitaram o desenvolvimento das tecnologias e equipamentos cada vez mais apropriados. Os primeiros passos foram as adaptações de instrumentos de medição específicos, como o termômetro e o densímetro. No ano de 1843, os trabalhos de Carl Josef Napoleon Balling puderam estabelecer bons parâmetros para medir e

controlar a conversão dos açúcares do mosto em álcool. Já o processo de fermentação em si, ainda permanecia um mistério. Os franceses A. Lavoisier, em 1789 e J. Gay-Lussac, em 1815, estabeleceram a fórmula química da oxidação da glicose em CO2 e etanol, e o sueco J. Berzelius formulou o princípio da catálise, e o alemão German Liebig aplicou-os à fermentação no ano de 1839, resultando em uma descrição razoavelmente precisa do processo global.

Enquanto isso, os primeiros estudos sobre enzimas eram publicados, e entre 1855 e 1875, o francês Louis Paster estabeleceu de modo inequívoco o papel da levedura na fermentação alcoólica, a natureza fisiológica da fermentação e as diferenças entre metabolismo aeróbico e anaeróbico. O grande interesse despertado pelos microrganismos resultou em diversos estudos de caracterização de diferentes leveduras, e ao final do século, a teoria das leveduras puras já eram bem aceitas nas cervejarias.

O domínio da química teve impacto, principalmente ao se detectar, na primeira metade do século XIX, adulterações e aditivos perigosos a saúde, em cervejas inglesas e alemãs. Gerando discussões mais fortes a respeito de regulamentações e controle de processos produtivos da bebida.

Na virada do século XX, a produção e o consumo de cerveja já haviam se espalhado por todo o mundo. No Brasil, segundo Santos (2003), as primeiras cervejas eram produzidas de forma caseira por imigrantes apenas para consumo próprio (apud ZAGO, 2018). A primeira cervejaria do Brasil, a cervejaria imperial Bohemia, foi fundada em 1853, popularizando a bebida por aqui. Com o crescimento do consumo no país, em 1888 surgem a Cervejaria Brahma e a Cia. Antártica Paulista, tornando-se as duas maiores cervejarias do Brasil, posteriormente dando origem a Ambev – Companhia de Bebidas das Américas. Segundo pesquisa realizada pela Credit Suisse e Statista, divulgada pela CupomValido em 2021, o Brasil é o terceiro país que mais consome a bebida no mundo, sendo responsável por 7% do consumo do planeta, atrás somente da China (27%) e dos Estados Unidos (13%) (MACEDO, 2021).

Compreende-se como fator fundamental o controle produtivo da bebida a fim de garantir qualidade esperada pelo consumidor, visando a expansão do mercado de bebidas alcoólicas fermentadas. De acordo com o conhecimento científico e o avanço tecnológico sabe-se que para boas características sensoriais do líquido é de suma importância o controle de qualidade das matérias primas, condições operacionais, cinética das reações e assiduidade higiênica dos equipamentos.

A respeito do processo produtivo da cerveja é fundamental o controle de parâmetros, como por exemplo, temperatura, pressão, presença de oxigênio e etc., a fim de garantir a qualidade da bebida. Mas é durante o processo de fermentação que ocorre a transformação dos açúcares presentes no mosto em álcool e gás carbônico, sendo uma etapa crítica do processo, afinal é nesta etapa que o mosto produzido se transformará em cerveja.

O principal objetivo desta etapa é garantir que a bebida possua as melhores características sensoriais, químicas e fisicoquímicas e, portanto, exige cuidados especiais durante toda a sua fase em relação as variáveis de controle envolvidas.

Vários aspectos precisam ser avaliados para determinação do tipo de produto que deseja-se obter, tais como a levedura a ser utilizada e o tempo de fermentação (baixa ou alta fermentação).

Sabido da importância do controle de qualidade da fermentação para a produção da bebida, o presente trabalho apresenta características fundamentais a serem ponderadas e o impacto dos cuidados necessários para garantir a qualidade do processo evitando desperdícios.

#### 1.1. Objetivos gerais

Estudar o processo produtivo da cerveja e identificar principais particularidades das etapas no que diz respeito a qualidade.

#### 1.2. Objetivos específicos

Para atender o objetivo geral citado anteriormente, os seguintes objetivos específicos deverão ser explorados:

- a) Entendimento do processo de produção de cerveja;
- b) Revisão bibliográfica de aspectos de qualidade do processo produtivo;
- c) Estudo dos aspectos de qualidade que impactam o processo fermentativo;

#### 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1. Matérias Primas

#### 2.1.1.1. **Água**

A água representa cerca de 90% da composição em massa da cerveja e exerce grande influência sobre a qualidade desta (DE KEUKELERIE, 2000). A água transforma o sabor final devido ser componente majoritária da bebida e sua interação com os demais ingredientes. De acordo com Rosa e Afonso (2015, p. 99-100), existem dois tipos de água utilizados na fabricação da cerveja: a água cervejeira e água de serviço, sendo a diferença entre elas a utilização, os aspectos fisicoquímicos, principalmente pH, e os padrões microbiológicos. A água de serviço deve ser utilizada somente em locais que não entrem em contato direto com o produto e ser livre de turbidez.

No entanto, a água cervejeira é utilizada durante todo o processo em contato direto com as demais matérias primas, desde o preparo do malte para a moagem até a rinsagem final das embalagens. Os minerais que compõe a água cervejeira (principalmente Sulfatos e Cloretos) afetarão diretamente o seu perfil sensorial. Vale ressaltar que os sais em excesso promovem o aumento do pH (alcalinidade), má formação de açúcares, degradação proteica mais lenta, extração de polifenóis e uma melhor solubilização das substâncias amargas do lúpulo (SOUZA, 2016 apud ANDRADE, 2019, p. 20).

A água empregada no fabrico da cerveja deve ser livre de turbidez, ou seja, livre de partículas em suspensão de natureza orgânica ou inorgânica, a fim de evitar

que estas partículas sirvam como fonte de alimentação de microrganismos. Além disso, é necessário também que o pH seja controlado, entre 5 e 9,5, para regulação da atividade enzimática, solubilização de componentes adstringentes, variação da cor e a coagulação dos componentes proteicos do mosto (DRAGONE; MUSSATI; SILVA, 2007, p. 37-40).

Uma das maneiras de caracterizar a água é descrever sua dureza. A dureza é determinada pelo teor de sais de cálcio e magnésio, assim, a água pode ser descrita como dura ou mole, dependendo da sua fonte geológica (MENEGUETTI; ROLIM; SALIMBENI, 2016, p. 29). A depender do tipo de cerveja a ser fabricada, selecionase água dura ou água mole, por exemplo, se a cerveja de interesse for Pilsen, utiliza-se água mole, ou seja, com menor quantidade de sais minerais é melhor.

Tratando-se dos constituintes da água, no caso de componentes inorgânicos, estes afetam diretamente na qualidade da bebida, visto que se em excesso impactam no processo de fermentação e se escassos podem ocasionar problemas de corrosão na produção, sendo os principais constituintes:

- a) Cálcio (Ca+): não influencia no sabor, mas em excesso afeta fermentação pois reduz os fosfatos, que são nutrientes para as leveduras. É capaz de melhorar a estabilidade coloidal da bebida, diminuir a extração de taninos e ajudar na clarificação, fazendo com que as proteínas antecipem nas etapas de fervura e fermentação;
- b) Magnésio (Mg+): contribui como nutriente para a levedura, mas em excesso pode causar um amargor desagradável;
- c) Sódio (Na+): o sal mineral não é importante para o processo produtivo mas interfere no sabor da bebida, pois aumenta a sensação de corpo e doçura. No entanto, em excesso causa um sabor desagradável devido a presença de sulfato;
- d) Zinco (Zn): estimula o crescimento da levedura, mas em excesso pode ocasionar uma fermentação interrompida. No final da fervura, o sulfato de zinco pode ser usado para correção;
- e) Sulfatos (SO<sub>4</sub><sup>2</sup>-): reduz o amargor e ajuda na formação de trub.
- f) Bicarbonatos (HCO<sup>3-</sup>): dificultam a ação da alfa-amilase, pois são resistentes a acidificação da brassagem, aumentando o amargor e gerando off-flavors.

Para atingir os níveis ideais de sais é preciso analisar a composição da água utilizada e realizar os tratamentos necessários para correção.

No caso dos constituintes microbiológicos, é fundamental o controle para ausência de organismos patogênicos, para evitar problemas de saúde aos consumidores. E, portanto, é de suma importância um plano de higienização dos locais de armazenamento da água cervejeira e todas as instalações industriais para garantir que a água seja límpida, sem sabor, livre de microrganismos e permaneça nas condições estabelecidas após o tratamento ideal para produção do tipo de cerveja desejado.

#### 2.1.1.2. Malte

O malte é resultante do processo artificial de malteação, ou seja, a transformação da cevada, cereal da família das gramíneas (gênero Hordeum). A escolha da cevada como principal cereal para fabricação de cerveja está intimamente relacionada com a boa relação amido/proteína por proporcionar bons rendimentos na obtenção de açúcares durante o processo de brassagem, além de possuir proteínas em teor suficiente para promover uma boa espuma e, após a malteação, enzimas e aminoácidos necessários para a fabricação da cerveja. Outras características especiais da cevada são: a boa conservação das cascas após a colheita, o que facilita os processos de malteação do grão e de filtração do mosto; o embrião e as radículas formados durante germinação são mais robustos e prendemse com mais firmeza, facilitando assim a movimentação mecânica dos grãos; a fácil gelatinização do amido quando submetidos a temperaturas inferiores temperaturas ótimas paras amilases, o que facilita o processo de mostura; e o teor de lipídios, importante para a estabilidade da espuma e para o rendimento, embora em excesso após a malteação possa ser um fator prejudicial a estabilidade organoléptica (WECKL e SCHWARZ, 2019).

No processo de malteação, a germinação é controlada para que a cevada seja modificada até o ponto desejado. Em seguida, os grãos passam por um processo de secagem para que ocorra a inativação enzimática e consequentemente a interrupção da germinação.

De acordo com Oliveira (2015), o processo de malteação é divido em três etapas: maceração, germinação e secagem. Na maceração, o principal objetivo é umedecer o grão de modo homogêneo, de modo que as variedades de cevada apresentam diferenças em relação a umidade necessária para a germinação e a velocidade de umidificação dos grãos. Neste processo, a temperatura deve ser controlada para evitar a aceleração brusca do metabolismo do embrião da cevada causando sufocamento, e as tinas devem ser dotadas de sistemas de drenagem para facilitar a expulsão do gás carbônico, e eventualmente, de etanol, para não prejudicar a respiração do grão.

Durante a germinação, as enzimas necessárias para o uso do malte em cervejaria são formadas ou ativadas. Além disso, é nessa etapa que a estrutura do grão de cevada é modificada, produzindo um grão mais macio e levando ao melhor acesso das enzimas. A alfa-amilase e a beta-amilase destacam-se entre as enzimas formadas ou ativadas, são as responsáveis pela quebra do amido dos grãos no processo de mostura. Já as proteases provenientes da germinação são enzimas responsáveis pelo aumento do teor de aminoácidos no malte e no mosto, sendo considerada principalmente para a formação de diversos aromas pela levedura durante a etapa de fermentação. E as enzimas beta-glucanases quebram as moléculas de glucanos em estruturas mais simples e menos viscosas, contribuindo para uma melhor filtração do mosto.

Após todas as transformações ocorridas durante o processo de germinação, a secagem permite a interrupção da modificação enzimática do grão, conservação de

enzimas em quantidade suficiente para o processo de brassagem, obtenção de características de coloração e aromas desejáveis e eliminação de aromas indesejáveis. Depois da diminuição da umidade, o embrião do grão morre, e algumas enzimas são destruídas pelo aquecimento. A maioria delas, entretanto, permanece apenas inativada até o uso do malte na mostura, reestabelecendo condições de umidade e temperatura adequadas para a reativação de atividade enzimática. Durante a secagem, muitas substâncias, resultantes da quebra enzimática, reagem entre si e formam compostos responsáveis pela cor e aromas específicos do malte. (MUZZOLON et al, 2021, p. 206-208).

Além da cevada, outros cereais também são utilizados na composição de alguns estilos de cerveja. O mais comum é o trigo na sua forma maltada, que caracteriza estilos de cervejas com aromas mais fenólicos e esterificados, mas as variedades de trigo destinadas à malteação são selecionadas para que sejam obtidas baixas viscosidades e modificações proteicas, permitindo deste modo, processo de malteação mais brando que o utilizado na produção a partir de cevada. O trigo, diferentemente da cevada, apresenta-se sem cascas após a limpeza dos grãos, o que dificulta a malteação e a filtração do mosto, além de possuir maior teor proteico, levando a uma tendência maior de turbidez a frio, e melhor formação e estabilidade da espuma.

O malte contribui positivamente em diversos atributos da cerveja (aroma, cor, espuma), mas pode contribuir negativamente em alguns aspectos: adstringência, aromas de envelhecimento provenientes de ácidos graxos, problemas de estabilidade de espuma e turbidez, além de aromas desagradáveis como aldeídos e Dimetilsufeto (DMS).

#### 2.1.1.3 **Adjuntos**

Adjuntos é o termo utilizado para referir-se a todas as matérias primas, diferente do malte, que atuam como fontes adicionais de extrato para o mosto. Como forma de tornar o processo de produção de cerveja economicamente mais vantajoso, faz-se o uso de adjuntos, em geral, cereais como arroz e milho, xaropes e açúcares. (ABOUMRAD et al., 2015).

A utilização de adjuntos traz, de acordo com seu tipo e sua proporção, alterações no perfil organoléptico da cerveja. Os aspectos de qualidade mais influenciados são relativos ao teor de proteínas e aminoácidos, às substancias formadoras de cor e aroma, ao teor de glucanos e lipídios, e à fermentabilidade dos açúcares obtidos dos adjuntos. O sucesso do uso também está relacionado a obtenção de cervejas mais suaves e aromáticas, e ao selecioná-los devem ser considerados aspectos como o estilo de cerveja desejado, as capacidades dos equipamentos envolvidos, os nutrientes essenciais para as leveduras a serem utilizadas, custos e disponibilidades de estocagem.

O adjunto mais utilizado na indústria cervejeira brasileira é o milho, em suas mais variadas formas: *grits* de milho, xaropes de glicose ou de maltose. O milho utilizado nas cervejarias é normalmente desgerminado, com o intuito de minimizar

possíveis danos a estabilidade do sabor e da espuma da bebida. Para assegurar uma qualidade superior, as formas mais utilizadas desse adjunto são os grits e os flocos de milho desgerminado. Durante o processamento do milho, o teor de proteínas é reduzido, e uma pequena parte dessas proteínas são solubilizadas no processo de fabricação do mosto, que deve ser acompanhado com cautela já que proporções mais elevadas podem causar limitações na disponibilidade de aminoácidos para a levedura na fermentação.

Outro adjunto muito utilizado é o arroz, que é classificado em três tipos básicos, de acordo com o seu tamanho. As principais diferenças entre as variedades são as propriedades de gelatinização no cozimento, por causa das estruturas dos grânulos. Normalmente, o arroz é recebido a granel nos moinhos, sendo descarregado em uma espécie de filtro, a moega, que o transporta para os silos de armazenamento, para depois passar por uma série de procedimentos de limpeza e preparação. Geralmente, a diluição desses adjuntos ocorre em maior quantidade de água para facilitar a gelatinização e a posterior liquefação pela atuação enzimática, quando a calda do adjunto gelatinizado é adicionada ao mosto de malte na tina de mostura, nestes casos, pode-se adicionar enzimas exógenas ao adjunto, facilitando a gelatinização e promovendo a liquefação do amido.

Além dos tradicionais cereais, amidos de outras fontes como batata e mandioca já são utilizados. Os exemplos de adjuntos até agora citados são normalmente associados à economia de custos, entretanto, existem outros motivos para a sua utilização, como a formação de aromas e sabores e a melhoria da espuma. Bons exemplos disso são as cervejas de trigo, cervejas sem glútens, cuja sua fabricação é de extrema importância o uso de adjuntos como o sorgo, o milho e o arroz, além de outros potencialmente utilizáveis como o trigo sarraceno.

Cordeiro e Prestes (2008) indicam que os adjuntos sejam separados em quatro tipos:

- a) Antioxidantes: tem como função evitar a ação do oxigênio, que é o principal fator da deterioração das gorduras dos alimentos;
- b) Estabilizantes: mantém as características físicas das emulsões e suspensões, isto é, misturas como a bebida alcoólica. São adicionados as cervejas com a finalidade de aumentar sua viscosidade;
- c) Acidulantes: atuam como adjunto de aroma e sabor;
- d) Leveduras: as leveduras mais utilizadas são as do gênero Saccharomyces: Saccharomyces cereviasiae (alta fermentação) e Saccharomycesuvarum (baixa fermentação). Uma levedura de baixa fermentação é considerada de boa qualidade para a produção de cerveja, se permanecer em suspensão durante a fase ativa da fermentação, e então flocular e sedimentar, favorecendo a separação rápida da cerveja clarificada do sedimento.

#### 2.1.1.4. Lúpulo

O lúpulo utilizado na fabricação de cerveja é a flor seca da planta fêmea do lúpulo, natural de muitas zonas temperadas da Europa, dos Estados Unidos e da China. O sabor característico do lúpulo é essencial para o impacto organoléptico total da cerveja, a estabilidade do sabor e a retenção da espuma. (DRAGONE et al., 2007, p. 38). Existem diversas variedades de lúpulo produzidas pelo mundo, cada qual com suas especificidades. Os lúpulos podem ser classificados em duas categorias básicas: aromáticos e amargor.

Os lúpulos de amargor possuem conteúdo em alfa-ácidos maior que as variedades aromáticas, e perfil aromático menos apreciado. As principais regiões produtoras situam-se no hemisfério norte, devido a necessidade de períodos longos de luz solar.

Nas etapas de colheita, seleção e prensagem do lúpulo, boa parte dos parâmetros de qualidade está relacionada a preservação das glândulas de lupulina presente nos cones da planta. O lúpulo produzido em áreas onde há a presença de plantas masculinas contém sementes, o que é considerado um defeito da flor. Essas sementes são ricas em ácidos graxos, que prejudicam o perfil organoléptico da cerveja, e outro problema é que as sementes esmagam as glândulas de lupulina, causando uma perda na estabilidade do lúpulo ao envelhecimento. Outros fatores que influenciam negativamente são: presença de folhas e talhos, por adicionarem off-flavors; a quebra excessiva das flores, por provocar danos a lupulina; secagem excessiva e resfriamento insuficiente, por desproteger a lupulina; a exposição a fungos; e a colheita tardia.

O lúpulo confere a cerveja propriedades como: amargor, que equilibra o caráter maltado da bebida; aromas agradáveis frutados, herbais, florais, resinosos ou amadeirados; relativa estabilização microbiológica, por suas propriedades bacteriostáticas; estabilidade da espuma, relacionada a presença de alfa-ácidos isomerizados; estabilidade a oxidação, relacionada com a presença de polifenóis. Todas essas propriedades são decorrentes das substancias químicas presentes na planta, influenciadas pela composição do lúpulo utilizado, em geral dispostas de acordo com a tabela 1.

As resinas do lúpulo são as responsáveis pelo amargor na cerveja, sendo classificadas em dois tipos: as moles e as duras. As resinas moles correspondem a fração solúvel em hexano, composta de alfa-ácidos, beta-ácidos e outras resinas não caracterizadas, enquanto as resinas duras, insolúveis em hexano, compreendem os taninos e outros produtos. As resinas moles contribuem de maneira mais significativa para o amargor da cerveja. Além do amargor, as resinas favorecem a estabilidade da espuma da cerveja, ligando-se por pontes de hidrogênio às proteínas da espuma.

O índice de utilização do lúpulo mede a quantidade de alfa-ácidos original que permanecerá no mosto ou na cerveja final. Para um lúpulo em flor, cerca de metade dos alfa-ácidos não será solubilizada ou se perderá na fervura. Alguns dos fatores que influenciam a perda de alfa-ácidos são o arraste no trub, juntamente com as proteínas precipitadas, a perda da fração que adere as membranas da levedura durante a fermentação, o espumamento nos tanques de fermentação, e as ligações

com proteínas de baixo peso molecular formadoras de turbidez a frio na maturação. Este índice de utilização aumenta com o tempo de fervura, até atingir seu ponto máximo.

Alguns fatores influenciam as taxas de utilização do lúpulo como, por exemplo, o pH do mosto mais elevado aumenta a utilização; as temperaturas de fervura mais altas provocam leve aumento; as elevadas taxas de amargor tendem a reduzir a utilização; a quantidade de levedura a que a cerveja é exposta e a filtração asséptica.

Para aproveitar totalmente o potencial do lúpulo destinado ao amargor na cerveja, a porção destinada ao amargor é dosada logo ao início da fervura. As unidades de amargor, *Bitterness Unit* (BU) ou *International Bitterness Unit* (IBU) são uma medida determinada quimicamente que define a intensidade do amargor, medem não somente a quantidade de alfa-ácidos, mas também uma fração de amargor proveniente de outras fontes diferentes, como por exemplo, os produtos da oxidação dos beta-ácidos.

Grupo Componente % Fórmulas estruturais Água 6-12 H<sub>0</sub>O Áqua Fração solúvel em Alfa-hidroxiácidos 2-17 R - CH(OH) - COOH Beta-hidroxiácidos R - CH(OH) - CH<sub>o</sub> - COOH n-hexano ("resina 1 - 10 mole") Óleos essenciais 0.5 - 2.5Bizzo et al., 2009 Fração insolúvel em Polifenóis 2-5 Kremer et al., 2009 n-hexano ("resina Aminoácidos 0.1 R - CH(NH<sub>a</sub>) - COOH dura") Carboidratos simples 2 C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> (glicose) 2 Canteri et al., 2012 Pectina CH3 - (CH2) - COOH (v > 7) Ácidos graxos e lipídeos 0-2,5 (Maihara et al., 2006)

Proteínas/carboidratos complexos

Sais minerais

Celulose

Tabela 1 Composição média do lúpulo (% em massa)

Fonte: Araújo et al. (2003)

15

8 - 10

40 - 50

Maihara et al., 2006

Vários (sais Ca, Mg, Zn etc.)

Ogeda e Petri, 2010

Os óleos essenciais do lúpulo são responsáveis pelo aroma típico da variedade utilizada. O aroma encontrado na cerveja pode ter diferentes características, dependendo da variedade e do momento da adição do lúpulo aromático. Quando adicionados um pouco antes do final da fervura, em geral, conferem aromas herbais e condimentados, pois os compostos mais voláteis dos óleos essenciais são evaporados, deixando compostos menos voláteis. Mas quando adicionados ao final da fervura ou no whirlpool preserva mais compostos voláteis, como álcoois e ésteres, responsáveis por notas florais e frutadas. Outra técnica chamada *dry-hoping*, que consiste na adição de lúpulo após a fermentação, confere a cerveja aromas similares aos do lúpulo original. O chamado aroma de queijo é associado a estocagem inadequada ou prazo de validade vencido do lúpulo (ARAÚJO et al., 2003), e decorre de volatilização de componentes da resina mole e da oxidação química e/ou biológica de componentes da resina dura.

#### 2.1.1.5. Levedura

A levedura é o ser vivo mais importante no processo de produção da cerveja. Este é um fungo unicelular e anaeróbico facultativo responsável pela fermentação do mosto (FILIPE, 2019, p. 10). São células eucarióticas unicelulares do reino *Fungi,* classificadas como quimiorganoheterotróficos, ou seja, utilizam compostos químicos orgânicos ou inorgânicos como sua fonte de energia.

A levedura é o único organismo vivo que consegue alternar entre a respiração e fermentação. Apesar da presença de oxigênio, a levedura irá sempre tomar o caminho da fermentação para consumir a glicose (STWART e RUSSEL, 2005 apud MEDEIROS, 2010, p. 18). Segundo Medeiros (2010, p. 19) é a responsável pela fermentação alcoólica, obtendo a sua energia na fase da respiração (aeróbio) e, na ausência de oxigênio, durante a fase de fermentação. A fase respiratória ocorre nas primeiras horas de fermentação com a multiplicação celular, e a rota fermentativa inicia-se na escassez de O<sub>2</sub> sendo caracterizada pela queda de substrato, formação de espuma e comportamento exotérmico.

Como em todas as células vivas, a membrana plasmática da levedura forma uma barreira entre o citoplasma e o ambiente externo, formada principalmente por lipídios e proteínas, sendo suas principais funções: agir como barreira contra a difusão livre das substâncias, catalisar reações específicas de troca com o meio externo, regular a conservação e o consumo de energia pela célula, facilitar a interação com algumas moléculas específicas envolvidas em processos metabólicos e dar suporte estrutural. O estado de fluidez da membrana é fundamental para o metabolismo e para a multiplicação celular. Devido a isto, a temperatura exerce grande influência no comportamento da levedura em diversas etapas de fermentação, da maturação e durante a estocagem da levedura.

#### 2.2. Processo produtivo

O fluxograma da Figura 1, proposto por Afonso e Rosa (2015, p. 100), retrata de forma objetiva as etapas fundamentais da produção de cerveja desde a matéria prima até a saída do produto final para o envase. O processo de produção baseado no fluxograma apresentado é descrito a seguir.



Figura 1 Resumo do processo cervejeiro

#### 2.2.1.1. Moagem do malte

O termo moagem não deve ser entendido como redução a pó, mas sim como esmagamento na moagem do malte. O grão de cevada, de acordo com a sua estrutura apresentada na figura 2, deve ter a sua casca rasgada longitudinalmente para deixar exposto o endosperma amiláceo. Este sim deve ser triturado, a fim de facilitar o ataque das enzimas durante a mosturação. É importante que durante a moagem do malte, a formação de farinha fina seja a menor possível, para se evitar a formação excessiva de material mucilaginoso na mistura água/malte/adjunto durante a mosturação, o que causa lentidão na filtração do mosto. (TELEGINSK, 2018)

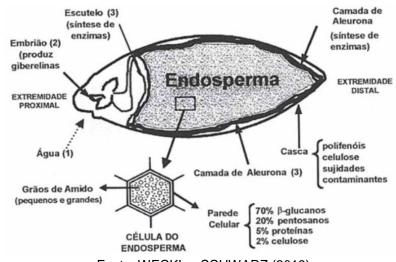


Figura 2 Estrutura do grão de cevada

Fonte: WECKL e SCHWARZ (2019)

A moagem tem por objetivo quebrar o grão do cereal e expor o seu amido interno, aumentando a superfície de contato com as enzimas do malte, favorecendo a hidrólise. Essa etapa tem relação direta com a velocidade das transformações físico-químicas, rendimento, clarificação e qualidade final da cerveja (DRAGONE; ALMEIDA; SILVA, 2010 apud TOZETTO, 2017, p. 24). Pode ser executada em equipamentos que permitam a exposição do conteúdo interno do cereal, do tipo moinho de rolos, discos ou martelos. (VENTURINI FILHO, 2000 apud TOZETTO, 2017 p. 24).

De acordo com Teleginks (2018), alguns fatores que influenciam no processo de moagem são a qualidade do malte (solubilização e teor de umidade) e a própria eficiência dos moinhos. Os equipamentos usados para a moagem e para a granulometria do malte moído devem ser adequados ao equipamento de filtração de mosto, como por exemplo, se empregado moinho de rolos utiliza-se tina filtro/de clarificação, ou se empregado moinho de martelo utiliza-se filtros-prensa. Na maior parte dos processos, a moagem precisa preservar as cascas ao máximo para servirem também como meio filtrante. Os ajustes de moagem devem ser feitos para minimizar as diferenças entre os tipos de malte utilizados, principalmente no que diz respeito ao tamanho dos grãos, aos graus de modificação e a umidade desses maltes.

Ainda de acordo com Teleginks (2018) o moinho de rolos é mais utilizado, e exige uma rotina de calibração disciplinada do espaçamento e dos próprios rolos visto que o rendimento está diretamente ligado a estes. Nesse tipo de moinho, a extração de polifenóis é menor, devido ao menor rompimento das cascas, e normalmente é empregado com 2, 4, 5 ou 6 rolos, mantendo estruturas similares a estrutura apresentada na figura 3. Quanto maior o número de rolos, maior flexibilidade operacional e atendimento de composições granulométricas mais assertivas.

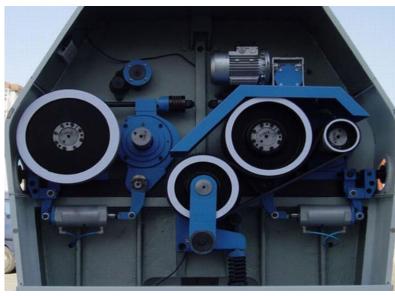


Figura 3 Estrutura de moinho de rolos

Fonte: Disponível no site da ChinaTown Grain Machinery.

Já o moinho martelo possui marteletes de metal que pressionam os grãos de malte contra peneiras, em rotação, formando uma moagem fina. Neste moinho, as cascas são mais fragmentadas, até por isso na filtração utiliza-se filtros prensa. Com uma moagem mais fina, o endosperma amiláceo fica mais exposto, o que torna o tempo de sacarificação mais rápido e atinge um teor maior de beta-glucanos, gerando maior rendimento, porém atinge também um maior teor de substâncias indesejáveis.

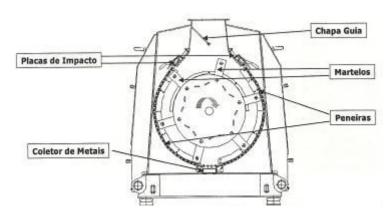


Figura 4 Esquema representativo do moinho martelo

Fonte: Disponível no site da AgroAds.

A extração de substâncias do malte é influenciada pelo tamanho das partículas formadas pela moagem do malte. No caso da utilização de moinho martelo, a quantidade de enzimas, FAN (Free amino nitrogen), betaglucanos e outras substâncias liberadas no mosto são maiores (..) o tamanho das partículas formadas pela moagem influencia a exposição e solubilização destas substâncias, sendo que a utilização do moinho martelo resulta numa maior extração, se comparado ao moinho de rolo. (TELEGINSKI, 2018)

A manutenção e a limpeza do moinho devem ser periódicas, pois, a eficiência da moagem impacta no tempo de filtração do mosto e na qualidade organoléptica da cerveja final. Dito isso, é importante salientar que existem três principais tipos de moagem: condicionada, condicionada em câmara e moagem úmida. Na moagem condicionada os equipamentos que condicionam o malte, ou seja, que umedecem as cascas, o que as torna mais flexíveis e resistentes à quebra durante a moagem, foram desenvolvidos para os sistemas de filtração que requerem uma preservação maior das cascas. Já no condicionamento em câmara, entende-se como um processo intermediário entre o condicionamento leve e a moagem úmida. Este tipo requer um tipo diferente de moinho, que contenha um pequeno silo na parte superior, uma câmara de volume específico entre o silo e o moinho. Rolos alimentadores regulam a vazão e o tempo de permanência do malte na câmara, em que um spray de água quente por poucos minutos aumenta a umidade do malte. Logo após os rolos de moagem, mais água é adicionada, de acordo com o volume e a temperatura da mostura desejados. Em alguns casos, para prevenir a oxidação da mostura neste processo, quantidades de gás inerte podem ser injetadas na câmara de moagem. E, a moagem úmida, ocorre em um equipamento similar ao usado no condicionamento em câmara, porém a umidificação se dá pela imersão da quantidade total do malte no silo acima do moinho em água quente, e após a imersão, a água é drenada e o malte moído. Após a moagem, mais água é adicionada para a transferência do malte moído por bombeamento até a tina de mostura. Além do inconveniente da perda de extrato nessa água, a umidificação geralmente não é homogênea, a presença de pó no malte provoca entupimentos e a carga orgânica do líquido drenado é elevada.

Nos moinhos úmidos e na moagem condicionada em câmara, a moagem coincide com a alimentação da mostura; portanto a operação deve ocorrer no menor tempo possível, geralmente entre 20 e 30 minutos. No caso da moagem seca, o malte moído pode ser armazenado por períodos curtos de tempo antes da sua utilização. Para isso, utilizam-se caixas ou silos especiais, com fundo cônico ou inclinado, com a finalidade de alimentar a mostura. Ocasionalmente, o transporte do malte moído não é feito por gravidade, mas por transportadores, quando é levado até um misturador, na entrada da tina de mostura.

#### 2.2.1.2. Mosturação

A mosturação, ou tratamento enzimático do mosto; é a mistura do malte moído com a água cervejeira na tina de mostura, ou cozinhador de malte ou ainda

na primeira panela se for processado em escala reduzida. Nesta etapa emprega-se um controle rigoroso de tempos e temperaturas de processo, com o objetivo de favorecer as reações bioquímicas necessárias ao processo (BUSCH, 2015). É o processo de dissolução e transformação do malte em uma solução de açúcares e outros sólidos dissolvidos, para formar o extrato.

Uma etapa crítica desta etapa é a pré-mostura, ou seja, a arriada do malte, que consiste na mistura do malte de modo homogêneo com a água, de modo mais eficiente possível, sem a formação de grumos, que reduzem a recuperação do extrato. A mostura deve entrar na tina preferencialmente pelo fundo ou pela lateral da tina, de modo a minimizar a incorporação de oxigênio. Nesta etapa, a hidratação é completada pela agitação na tina de mostura. Nos casos de moagem condicionada ou úmida, a mistura é feita já no moinho, sem a necessidade especial de prémistura. Durante o processo ou logo após a pré-mostura, o pH e o teor de cálcio são parâmetros ajustados com a adição de sais como cloreto de cálcio ou sulfato de cálcio.

No processo de decocção tradicional, após ajustes de pH e cálcio, parte do volume é transferido para outra tina, geralmente de capacidade menor, onde a temperatura é elevada até a fervura. Então, imediatamente ou após algum tempo, essa mesma parte é transferida de volta para a tina de mostura.

Na tina de mostura, a função principal da agitação é evitar a inativação enzimática causada pela temperatura elevada na interface entre o mosto e a superfície de aquecimento, geralmente em uma serpentina ou camisa de vapor. E na tina de decocção/cozinhadores de adjuntos, a agitação evita a caramelização do mosto na superfície do aquecimento, o que pode provocar a formação de sabores e aromas indesejados (como queimado, por exemplo) além de prejudicar a troca térmica.

Durante esta etapa de mosturação, o processo de infusão com rampas e patamares de temperatura é mais econômico em termos de energia e investimento. Ou seja, uma segunda tina de mostura é frequentemente utilizada onde os ciclos de filtração são reduzidos e permitindo um ciclo maior da sala de brassagem por dia. Essas máquinas são equipadas com duas ou três zonas de aquecimento, o que permite a flexibilização dos volumes de trabalho, formadas por parede dupla ou por serpentinas, que aumentam a eficiência do aquecimento e da retirada de condensado. E os agitadores devem ser projetados para minimizar as forças de cisalhamento que modificam a estrutura dos glucanos e do amido, com o risco de formação de gel, complexos de substâncias de maior viscosidade ou de difícil ataque pelas enzimas, em alguns casos, adiciona-se betaglucanase para evitar a formação deste gel. Além disso, os agitadores devem ser projetados também a fim de diminuir a formação de vórtices para reduzir as chances de incorporação de oxigênio.

Ao término da mostura, ocorre a extração do mosto mais concentrado, chamado de mosto primário, que é separado do bagaço do malte. Em ambos os tipos de equipamentos é adicionada água quente de modo a recuperar o extrato embebido no bagaço, chamado de mosto secundário. Neste processo devem ser

pontos de atenção o pH e a temperatura da água para minimizar a extração de polifenóis e evitar a extração de amido ou hemiceluloses, o que causaria turbidez e provocaria complicações no processo de filtração da cerveja. A qualidade do mosto diminui à medida que a extração do mosto secundário avança. Se a extração for muito rápida, pode ocorrer o aumento do conteúdo de sólidos em suspensão: lipídios e glucanos. Na fervura, esses sólidos podem conferir sabor adstringentes à cerveja, além dos lipídios favorecerem a instabilidade do sabor e os glucanos favorecerem turbidez.

#### 2.2.1.3. Filtração do Mosto

As tinas de clarificação/tinas filtro, representadas na figura 5, são equipamentos de filtração de mosto formados por um tanque cilíndrico com um fundo falso, que não apenas age como filtro como ainda serve de suporte para a camada de sólidos da mistura. As tinas possuem uma série de facas de desenho especial, dispostas verticalmente e fixas em um eixo transversal. Essas facas servem para revolver a camada de bagaço, para aumentar a vazão de filtração e para eliminar caminhos preferenciais. É válido ressaltar que as facas são isoladas termicamente para evitar que a viscosidade do mosto aumente, e a entrada do mosto acontece similar aos demais equipamentos com o diferencial que o fundo falso é coberto por água quente previamente para a promover a eliminação do ar e evitar o entupimento das peneiras. Neste caso, o primeiro mosto é circulado por alguns minutos para diminuição da turbidez, até que a camada filtrante seja bem efetiva, evitando o arraste de partículas finas, e só então, o mosto começa a ser transferido para a tina. Antes que o bagaço seja descoberto, para evitar entupimento e o aumento da turbidez, realiza-se a lavagem do bagaço, ou seja, a extração do mosto secundário.

O objetivo da operação é separar mecanicamente as partículas sólidas de uma suspensão líquida com o auxílio de um leito poroso. Quando se força a suspensão através do leito, o sólido da suspensão fica retido sobre o meio filtrante, 18 formando um depósito que se denomina torta e cuja espessura vai aumentando no decorrer da operação. O líquido que passa através do leito é chamado de filtrado. Em princípio a filtração compete com a decantação, a centrifugação e a prensagem. (FOUST, A. S. et.al. 1982).

www.cervesia.com.br

Figura 5 Esquema representativo da tina filtro.

Fonte: Disponível no site da Cervesia

Hoje competem no mercado de equipamentos de filtração também os filtros de mosto de placas, apresentado na figura 6, que ocorre com o uso de telas de material resistente ao calor (geralmente polipropileno), com canais para escoamento do mosto e para a passagem de água de extração. Como dito anteriormente, seu uso também está intimamente ligado ao tipo de moinho utilizado no processo.

Podemos classificar os filtros prensa de acordo com o tipo de câmara de filtração utilizada, com diversas características de construção e operação, além de que poderia ser feita com relação ao tipo de processo: processo com a compressão da torta de bagaço ou sem a compressão.

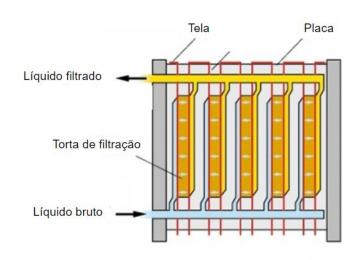


Figura 6 Esquema representativo do filtro prensa

Fonte: Raminhos (2016)

Por possuir telas muito menos espessas do que as de uma tina-filtro, as velocidades de filtração nesses equipamentos são maiores, e a área ocupada por um filtro de mosto é muito menor que a área de uma tina-filtro de mesma capacidade. Neste equipamento, o enchimento deve ser feito lentamente e uniforme para garantir que a carga de matéria prima seja distribuída uniformemente, inclusive na direção vertical, de maneira que a torta não tenha grande variação de espessura na placa. No estágio final do enchimento, o mosto pode ser levado de volta para a tina de mostura até que o valor de turbidez adequado seja alcançado. Após a coleta do mosto primário, retira-se o mosto secundário com a entrada de água quente, e em seguida o descarregamento do bagaço é feito por uma abertura automática através da força da gravidade sobre uma moega de bagaço.

#### 2.2.1.4. Fervura do mosto

Após a filtração, o mosto passa por um processo de fervura que completa a inativação das enzimas, promove a esterilização e a coagulação do material proteico do mosto, realiza a extração e isomerização de compostos do lúpulo, diminui o pH, evapora voláteis derivados do malte e do lúpulo, além da formação de complexos proteína/polifenol, substancias redutoras, e substâncias colorantes e aromáticas (ROCHA, 2006). O desenvolvimento da cor está diretamente relacionado com a

intensidade da fervura. A produção da cor está ligada à reação de Maillard, seguida da degradação de Strecker, mas também pela formação de caramelo que como aditivo é empregado para corrigir a cor da cerveja, bem como desenvolver odores e sabores agradáveis. Essas reações de escurecimento consomem os açúcares redutores e aminoácidos prejudicando a fermentação. Há ainda o escurecimento causado pela oxidação dos taninos do lúpulo, considerado de menor importância no aumento da cor (VARNAM & SUTHERLAND 1997). Poucas mudanças acontecem no teor de carboidratos do mosto, a não ser o aumento da concentração. Acima de 70°C, a taxa de inativação enzimática é muito intensa, inclusive no caso das enzimas termoestáveis utilizadas. Poucos microrganismos podem sobreviver à fervura do mosto.

A remoção de parte do conteúdo proteico de alto peso molecular é um dos objetivos da fervura. A estrutura espacial da proteína se perde por causa da temperatura elevada e da agitação na fervura, sendo assim, grupos hidrofóbicos das moléculas de proteína migram para a superfície da sua estrutura, onde se unem a outros grupos hidrofóbicos, reduzindo a solubilidade e coagulando. No mosto, tais proteínas coaguladas formam o trub quente. A coagulação e a remoção insuficiente destas proteínas podem afetar os processos de troca entre a levedura e o meio, bloqueando a membrana e levando a uma queda insuficiente de pH na etapa de fermentação. O trub quente adere as partículas de lúpulo facilitando sua separação, no entanto, se a fervura for insuficiente, o trub frio que consiste em complexos formados por proteínas e polifenóis, sairão de solução no mosto frio na etapa de maturação da cerveja.

O lúpulo é adicionado diretamente à fervura, a primeira porção adicionada é destinada ao amargor e realizada 60 minutos do final da fervura, e a segunda porção destinada ao aroma é feita entre 20 minutos e o final da fervura, a depender do tipo de cerveja a ser produzida. As dosagens de lúpulo são calculadas por peso e pelo percentual de alfa-ácido presentes. O volume de mosto e as taxas dos tipos de lúpulo utilizados devem ser levados em consideração no cálculo. O lúpulo e seus produtos são, em geral, conservados melhor a frio e longe de umidade, embora alguns tipos de extrato e de lúpulo pré-isomerizados possam ser guardados em temperatura ambiente.

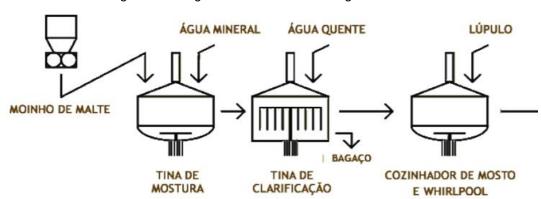


Figura 7 Fluxograma da Sala de Brassagem

Fonte: Adaptado de Silveira (2015)

Após a fervura, o trub formado deve ser separado do mosto, juntamente com resíduos de lúpulo em pellets, se for o caso. O equipamento mais utilizado é denominado de Whirlpool, sendo a retirada do mosto limpo por saídas laterais em diferenças alturas, com a intenção de minimizar o tempo de permanência do mosto. Feita a separação, o mosto deve ser resfriado rapidamente até temperaturas ideais para a levedura em uso, finalizando assim a etapa da brassagem descrita na figura 7.

#### 2.2.1.5. Tratamento e resfriamento do Mosto

O resfriamento tem por função principal deixar o mosto a uma temperatura onde a levedura possa ser adicionada a mistura, iniciando assim a fermentação. O fermento exige que a temperatura do mosto esteja abaixo de 35°C para cervejas de alta fermentação e abaixo de 15°C para cervejas de baixa fermentação, pois temperaturas maiores podem provocar a inutilização do mesmo. Outro aspecto importante que ocorre durante o resfriamento é chamado de ruptura a frio (cold break), que consiste na decantação de proteínas que foram separadas do líquido durante a ruptura a quente (PALMER, 2006).

Hughes (2014) e Palmer (2006) consideram o resfriamento um dos processos mais críticos da fabricação de cerveja, principalmente por causa do risco de contaminação microbiana e por leveduras selvagens, que podem gerar uma fermentação indesejada ou até mesmo estragar todo o lote de fabricação. Palmer (2006) afirma que, durante o resfriamento do mosto, quando a temperatura baixa da barreira dos 60°C o processo entra na fase mais crítica para a contaminação, pois em temperaturas menores que 60°C as bactérias encontram no mosto doce o ambiente ideal para se desenvolverem.

O equipamento usado para o resfriamento em geral é o trocador de calor de placas em estágio único ou duplo, sendo os fluidos refrigerantes água gelada (2 a 3°C) e solução de glicol (entre -3 e -5°C), representado na figura 8.

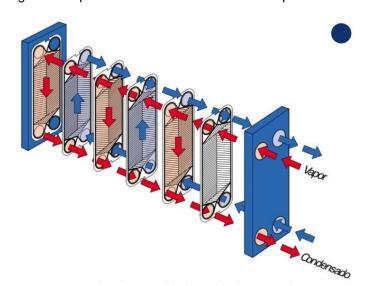


Figura 8 Esquema de um trocador de calor de placas

FONTE: Disponível no site da Vapor para La Industria.

#### 2.2.1.6. Aeração do Mosto

Durante os processos de brassagem, filtração e envase deve-se evitar a incorporação de oxigênio a todo custo, dado que nestas etapas agregá-lo é prejudicial a qualidade final do produto. No entanto, durante o início da fermentação a adição de oxigênio é vital para a reprodução das células de levedura. A quantidade necessária desse gás depende do estado em que se encontra a levedura, do perfil organoléptico desejado e do quanto se deseja multiplicar a levedura.

Nas etapas anteriores ao resfriamento do mosto, as temperaturas elevadas ajudam a reduzir consideravelmente a quantidade dissolvida no líquido, pois a solubilidade do oxigênio (O<sub>2</sub>) é inversamente proporcional à temperatura. Mesmo assim são realizados diversos cuidados já citados para evitar agrega-lo nestas etapas, e uma outra estratégia para tornar o ambiente inerte é a adição de nitrogênio evitando a aeração e consequentemente que O<sub>2</sub> faça ligação com outros compostos.

Mas neste caso, o mosto resfriado ao ser transferido é aerado via tubulação até a entrada dos fermentadores, usualmente injeta-se ar estéril ou oxigênio, a fim de garantir condições ótimas para as leveduras durante a fase aeróbica. De acordo com (ROCHA, 2006) enquanto houver oxigênio suficiente, a levedura propagará por divisão celular através da absorção e pela formação de anidrido carbônico, sendo este o metabolismo da respiração da levedura, expresso pela reação (1) abaixo:

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + calor$$
 (1)

Esta aeração garante a propagação da levedura, ou seja, as células iniciais de levedura adicionadas ao mosto dão origem a uma quantidade muito superior com as mesmas características. Este processo de aeração acontece novamente após o mosto estar no fermentador por completo, e é chamado de propagação secundária, ocorrendo durante as primeiras horas de fermentação e sendo responsável pelo consumo de todo o oxigênio presente, findando assim a fase aeróbica.

A quantidade de oxigênio implica diretamente na qualidade da etapa crítica do processo: a fermentação. Se houver pouca demanda de oxigênio para as leveduras acarretará em uma fermentação tardia, geração de off-flavors (como diacetil, por exemplo) e reduzirá a vitalidade do fermento. No entanto, se houver excesso, implicará na baixa formação de ésteres, autólise, formação de acetaldeído, álcoois superiores e espuma. (TJIP, 2020).

#### 2.2.1.7. Fermentação

O sabor da cerveja é determinado pela matéria prima, pelo tipo de processo e pela levedura utilizada, além dos compostos produzidos durante a fermentação e maturação, que exercem maior impacto nas características sensoriais da bebida (OLIVEIRA, 2011 apud CARVALHO, 2007).

No processo da fermentação ocorre a transformação dos açúcares presentes no mosto em álcool e gás carbônico (CO<sub>2</sub>) majoritariamente, através da ação da levedura. Esta reação de forma geral pode ser apresentada pela equação (2) abaixo:

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2 + 18 \,kcal$$
 (2)

A fermentação do mosto é dividida em duas etapas: a fase aeróbica e a anaeróbica. Na primeira fase, as leveduras consomem o oxigênio disponível, se reproduzindo em até 6 vezes da quantidade inicial. Em seguida, inicia-se a fase anaeróbica, onde ocorre a fermentação propriamente dita, convertendo os açúcares presentes (SANTOS, 2005).

A transformação da glicose em etanol e gás carbônico envolve doze reações que são catalisadas por enzimas especificas. A fermentação alcoólica se processa no citoplasma celular, pois é nessa região que se encontra todo aparato enzimático. As enzimas glicolíticas sofrem ações de diversos fatores (pH, temperatura, nutrientes, etc.) que podem estimular ou reprimir a ação enzimática, afetando dessa forma o desempenho do processo fermentativo conduzido pelas leveduras (LIMA et al., 2001 apud OLIVEIRA, 2011).

Esta etapa é tão crítica na produção que as cervejas podem ser classificadas de acordo com o seu processo fermentativo, em geral, cervejas de alta fermentação ou baixa fermentação. De acordo Andrade et al. (2011, p. 38) as cervejas de alta fermentação são as cervejas do tipo Ale, em que a espécie *Sacaromices cerevisae* é utilizada e a fermentação ocorre durante 4 ou 5 dias numa faixa de 18° a 25°C. Em geral, cervejas de alta fermentação possuem aromas mais intensos, por influência da temperatura elevada ocorre maior formação de álcoois superiores e ésteres, que agregam aromas frutados. É valido ressaltar que existem cepas de levedura que não produzem tanto ésteres e os aromas podem ser mais neutros, de modo que a escolha do fermento isoladamente não necessariamente vá impactar em uma cerveja mais ou menos aromática. E as de baixa fermentação são referentes a cervejas do tipo Lager, em geral, utiliza-se a *Sacaromices uvarum*, durante 8 ou 9 dias numa faixa de 8° a 14°C, de modo que as leveduras assumem atuam na parte inferior do tanque fermentador.

De acordo com (ROCHA, 2006) o processo fermentativo é composto basicamente por quatro fases. A primeira fase, é o período de adaptação das leveduras ao meio, ou seja, é período em que as leveduras se adaptam a temperatura e ao pH do meio para iniciar a síntese de enzimas e de lipídios do mosto. Com a adaptação, a levedura inicia o consumo do oxigênio do mosto com suas membranas celulares ajustando a permeabilidade para controlar o fluxo dos compostos. Na primeira fase não ocorre a fermentação propriamente dita e sua duração depende da composição do meio, da taxa de inoculação e a temperatura mantida ao longo do tempo, podendo variar entre 06h e 24h. Ao final da primeira etapa, forma-se uma espuma superficial no mosto.

Em seguida inicia-se a fase exponencial da fermentação, ou seja, ocorre o crescimento populacional e divisões celulares intensamente, provocando a formação de CO2 e produção de etanol além de muitos outros compostos metabólicos que compõe o perfil sensorial. Como esta etapa ocorre exotermicamente é necessário um controle rigoroso da temperatura para viabilizar condições ótimas para a ação enzimática, e a depender do tipo de fermentação pode durar até mais de sete dias,

sendo caracterizada pela formação intensa de espuma e CO2 e a liberação de alguns compostos que agregam off-flavors na cerveja como o enxofre, por exemplo. No momento em que a concentração de açúcar reduz drasticamente há pouca divisão celular e as leveduras buscam outras fontes para sua alimentação, e em geral buscam os metabólitos indesejados que foram produzidos na fase exponencial, como o diacetil e o acetaldeído, caracterizando a fase estacionária. Com a redução dos açúcares observa-se a sedimentação das leveduras diminuindo a turbidez, e para garantir o máximo de remoção dos off-flavors eleva-se um pouco a temperatura para induzir o aceleramento do metabolismo das células. A fase estacionária pode durar até quatro dias, e ao atingir o esgotamento de fontes de alimento para as células, atinge-se a última etapa da fermentação: a morte celular.

Com o meio inibindo o crescimento celular, as células enfraquecem e rompem suas paredes celulares liberando outros compostos metabólicos indesejáveis, devido a isto reduz-se a temperatura para retardar esta ação das células e a separação do fermento utilizado e do líquido devem ocorrer antes do processo de autólise (morte celular) dominar o meio.

O progresso da fermentação pode ser estimado por meio da atenuação do extrato, ou seja, da diminuição da presença de açúcares fermentescíveis. Pode-se também acompanhar os níveis de diacetil durante a fermentação, uma vez que o diacetil é produzido em grandes quantidades nas etapas iniciais da fermentação, mas depois é gradualmente consumido até o final dela. Além disso, pode-se dize que a fermentação chegou ao fim quando o CO2 para de ser produzido (PALMER,2006 apud SILVEIRA, 2015).

Ainda de acordo com Rocha (2006) alguns fatores que viabilizam a floculação da levedura no fim da fermentação são as mudanças na composição da parede celular, a redução do desprendimento das bolhas de CO<sub>2</sub>, a diminuição da concentração de açúcares concomitantemente com o aumento da concentração dos álcoois.



Figura 9 Esquema das fases de fermentação

FONTE: Disponível no site da Kasvi.(2021)

Ao final das fases de fermentação expressas na figura 9, obtém-se, além do mosto fermentado, uma grande quantidade de CO2, além de um excesso de levedos, já que estes se multiplicam durante o processo. Este levedo é então levado para tratamento e estocagem, sendo uma parte reutilizada em novas bateladas de fermentação e parte descartada como resíduo sólido (CARVALHO, 2007). O mosto fermentado, também conhecido como cerveja verde, segue para a próxima etapa do

processo produtivo para sua gaseificação e fornecimento de outras características organolépticas adicionais.

#### 2.2.1.8. **Maturação**

A maturação pode ser chamada também por fermentação secundária ou etapa de clarificação da cerveja. Neste processo as células de leveduras não removidas e subprodutos de decomposição de proteínas, polifenóis/taninos, trub entre outros, depositam-se no fundo do tanque reduzindo a turbidez. (SPEERS, 1999a apud MEDEIROS, 2010).

Segundo Dragone, Almeida e Silva (2006), a maturação, tem como função eliminar subprodutos indesejados, promover reações de esterificação fundamentais para agregar sabor e aroma, exigindo controles rigorosos para evitar oxidações. A clarificação depende de fatores como: tipos e concentrações de substâncias formadoras de turvação (proteínas e polifenóis) e da temperatura desta etapa pois quanto mais baixa maior o favorecimento de decantação. (SPEERS, 1999a apud MEDEIROS, 2010). É válido ressaltar que este processo acontece também nos fermentadores, porém o diferencial aqui é a retirada da levedura residual para minimizar a possibilidade de contaminação.

Um parâmetro importante na maturação é a temperatura. Baixas temperaturas também favorecem a formação de ésteres, que conferem aroma à cerveja, a partir de álcoois superiores e desfavorecem a formação desses álcoois. Estes são produzidos em temperaturas maiores do que 26°C e muitas vezes os responsáveis pela sensação comumente conhecida como "ressaca", além de atribuir sabor de solvente na cerveja (OLIVEIRA, et al., 2015 apud PALMER,2006).

As leveduras buscam por açúcares e álcoois mais pesados, transformando em ésteres, que conferem sabores frutados, além do consumo do diacetil. Durante a maturação, o diacetil é convertido em acetoína, a baixas temperaturas, e a conversão pode ser acelerada através da adição de enzimas. Pode-se dizer que a maturação chegou ao fim quando o diacetil está em baixas concentrações. (OLIVEIRA, 2015 apud PALMER, 2006).

Com a maturação completa, o líquido é resfriado para remoção de carga proteica aumentando a estabilidade microbiológica e fisioquímica da cerveja. Para este processo pode-se contar com diversos tipos de meios filtrante, sendo os mais comuns os filtros de vela, filtros de placas, filtros com membranas ou o uso de terra diatomácea como elemento auxiliar.

#### 2.2.1.9. Filtração

O objetivo dessa etapa é a remoção de partículas em suspensão tais como células remanescentes de levedura, proteínas precipitadas ou até mesmo possíveis coloides formados. Isso se deve ao fato da cerveja precisar de estabilidade ao ser entregue, de modo que não ocorram mudanças visíveis durante o seu período de comercialização (BRIGGS et al., 2004; CARVALHO, 2007 apud OLIVEIRA, 2015).

Esta segunda filtração proporciona uma cerveja mais cristalina e com a retirada dos microrganismos garante a estabilidade organoléptica. (CARVALHO, 2007 apud OLIVEIRA, 2015), além de garantir todas as condições necessárias para a durabilidade da cerveja. Como dito anteriormente existem diversos meios de realizar esta filtração, mas em geral todos são acrescentados estabilizantes, evitada a introdução de ar, realizada a baixas temperaturas e sob contrapressão para não ocorrer mudanças nos níveis de CO<sub>2</sub>. Dependendo da composição da camada de filtro, diferentes graus de pureza e fluxo do líquido filtrado podem ser alcançados.

Além dos objetivos básicos já citados a filtração secundária também tem papel fundamental na eliminação do oxigênio, ausência de contaminação por ferro (Fe) e cálcio (Ca), ausência de efeitos mecânicos através da força centrífuga e assegurar o mosto básico (°P) da cerveja. (REINOLD, 1995). Uma má filtrabilidade da cerveja implica em elevado consumo de água, energia e elementos auxiliares de filtração, além de riscos microbiológicos. Por isto, deve-se observar a densidade (ligada ao extrato e teor alcoólico), a viscosidade e as partículas turvadoras para conseguir mensurar a eficiência e os melhores meios para realização da filtração. Se necessário, realiza-se correções referente a cor, teor de CO<sub>2</sub> e estabilidade do líquido caso contrário o líquido está pronto para ser direcionado para as linhas de envase, ser pasteurizado e enfim distribuído.

#### 2.2.1.10. **Envase**

O envasamento ocorre por um conjunto de equipamentos e processos responsáveis pelo acondicionamento do produto nas embalagens, garantindo o mínimo teor de oxigênio, evitando a perda de CO<sub>2</sub> e contaminação microbiológica. Caso o líquido incorpore O<sub>2</sub>, ocorre a oxidação promovendo alterações sensoriais, turvações nítidas e modificação da coloração (GALATTO, 2008 apud MEDEIROS, 2010).

A cerveja armazenada nos tanques na Filtração flui diretamente para a área de Packaging, podendo ser envasada em garrafas de vidro, latas ou barris. A depender do tipo de embalagem tem-se um conjunto de processos diferentes até a distribuição da bebida. De modo geral as embalagens serão higienizadas, inspecionadas e disponibilizadas para o enchimento. Este processo de enchimento ocorre pela máquina denominada Enchedora, que inicia com injeção de CO<sub>2</sub> na embalagem para a retirada de O<sub>2</sub> e qualquer tipo de contaminante, seguida de uma nova pressurização até que as pressões da cúpula e da embalagem se equalizem, liberando a saída do líquido. Assim, a cerveja escoa lentamente por gravidade pelo cone de líquido direcionada em fina camada para as paredes da embalagem, a fim de evitar a incorporação de O<sub>2</sub> e a formação de espuma. A medida que a cerveja preenche a embalagem, é estabelecido um pequeno repouso para que o produto se estabilize após a agitação causada pelo enchimento, e ocorre uma lenta despressurização da embalagem a fim de garantir que sairá da máquina com a pressão atmosférica, evitando explosões. O próximo passo após o enchimento é a

vedação pelo arrolhador. Em geral, após o enchimento, as embalagens cheias passarão por novas inspeções e serão direcionadas para o pasteurizador.

#### 2.2.1.11. Pasteurizador

O pasteurizador é responsável por fazer o tratamento térmico da cerveja, a fim de tornar o produto estável por um período maior. Os microrganismos que sobrevivem na cerveja não são patológicos, mas podem causar efeitos prejudiciais a esta, incluindo: turvação, *off-flavors*, acidificação excessiva, etc. O processo de pasteurização da cerveja é, então, baseado no aquecimento gradual da cerveja a fim de destruir o metabolismo das células ou inativar os microrganismos. Vale ressaltar que o processo de pasteurização é responsável por diferenciar chopps das cervejas. O pasteurizador é composto por diversos tanques interligados e esguichos de água quente, sendo divido por zonas, sendo: zonas de aquecimento, zona de prépasteurização, zona de pasteurização e zona de resfriamento.

A temperatura sobe de forma gradual até a zona de pasteurização e depois desce gradualmente também. Ao adicionar as embalagens na entrada da máquina, a embalagem irá passar por cada zona, sendo o tempo variável de acordo com a embalagem e o tipo de cerveja desejável, até garantir a estabilidade do líquido. Ao sair da máquina, a cerveja está pronta para o consumo e será direcionada ao envase, completando assim todo o fluxograma produtivo descrito na figura 10

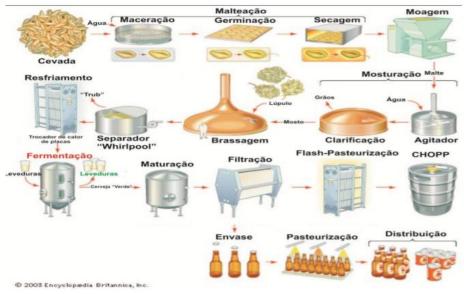


Figura 10 Fluxograma de produção de cerveja

Fonte: Encyclopaedia Britannica apud CARNEIRO, 2010

# 3 PRINCIPAIS IMPACTOS DE QUALIDADE NA FERMENTAÇÃO

#### 3.1. Levedura cervejeira

O processo cervejeiro é consequentemente um processo de múltiplos estágios envolvendo a conversão biológica de materiais in natura em produto final (WALKER, 2000; CARVALHO et al., 2006 apud BENTO et al., 2006).

Dito isso, evidencia-se a influência da levedura no processo a partir do entendimento de que a fermentação inicia exclusivamente após a adição de leveduras ao mosto frio. Como dito anteriormente, a levedura utiliza o açúcar do mosto como fonte de nutrientes e energia gerando boa parte das características organolépticas da cerveja, desempenhando papel fundamental no processo produtivo.

A eficiência da conversão dos açúcares do mosto em etanol e em outros subprodutos para produção da cerveja desejada é manipulada por diversos fatores como, por exemplo, a escolha da cepa da levedura, a fisiologia celular, a disponibilidade nutricional e as condições físicas do processo.

De modo geral, as células de leveduras possuem estruturas simples sendo compostas pela parede celular (com composição majoritária por glucanos, quitinas e manoproteínas), o citoplasma, vacúolos, retículo endoplasmático, mitocôndrias, núcleo e o complexo de Golgi, sendo a composição macromolecular bruta da levedura bastante influenciada pelo genótipo, pelos compostos genética, pelas condições dos processos de fermentação, propagação, manuseio e estocagem da levedura. (WHITE; ZAINSHEFF,2010 apud SUHRE, 2014). Ao observar a composição celular das leveduras, expressa na figura 11, deve-se destacar as seguintes organelas celulares:

#### a) Membrana Plasmática:

É formada majoritariamente por lipídios e proteínas, sendo a maior parte das proteínas ligadas a finalidade funcional, ou seja, participante de reações diversas e do transporte de substâncias; e os componentes lipídicos ligados a finalidades estruturais, como por exemplo a regulagem da fluidez da membrana, dependendo da variação da temperatura. O estado de fluidez da membrana é fundamental para o metabolismo e para a multiplicação celular, por isto, a temperatura exerce influência no comportamento da levedura;

#### b) Vacúolos:

Geralmente aparecem em maior número em condições de maior stress, ou em células prestes a se multiplicar. Essas organelas possuem duas principais funções: servir como depósito de nutrientes e de fosfato inorgânico e proporcionar um ambiente para a quebra de algumas moléculas maiores, especialmente proteínas, liberando produtos como aminoácidos para outras vias metabólicas;

#### c) Compartimentos intracelulares:

A existência destes compartimentos traz vantagens e desvantagens para a célula de levedura. É vantajoso por permitir ajustes para obter-se reações desejadas, como por exemplo, tornar o ambiente mais ácido no interior dos vacúolos. Porém, torna-se desvantajoso por exigir o desenvolvimento de um número maior de meios de transporte;

#### d) Parede celular:

Formada por uma matriz de carboidratos incrustrada de proteínas, suas funções mudam ao longo do ciclo da vida. Sua estrutura é formada por

uma rede de fibras de glucanos, com grânulos de manoproteínas e uma mistura amorfa de glucanos e quitina. A parede tem como principal função realizar a proteção osmótica dentro e fora da célula, ou seja, limitar o que pode entrar e sair da célula, protegendo assim a célula em relação ao meio do mosto cervejeiro, pois no trub, por exemplo, existem lipídios passiveis de serem absorvidos pelas leveduras causando a multiplicação celular e consequentemente impactando na formação de aromas da cerveja. Além de estar relacionada a aderência da célula as superfícies e substâncias do meio externo, possui papel fundamental para a floculação da levedura. As manoproteínas são receptoras no processo de floculação e importantes para a regulação da porosidade da célula, além disso possuem quantidades pequenas de fosfato na parte exterior da molécula, sendo este o principal responsável pela carga negativa da superfície da levedura. Uma manoproteína fundamental é a invertase por ser responsável pela hidrólise da sacarose em frutose e glicose. Por cautela, mesmo em condições microbiológicas muito boas limita-se o número de utilizações sucessivas da levedura para minimizar alterações sofridas pela parede celular provenientes do contato com o mosto, afim de evitar impactos no metabolismo da levedura, como a habilidade de absorção de nutrientes; na floculação; e no amargor final visto que as substâncias amargas presentes no lúpulo aderem à superfície.

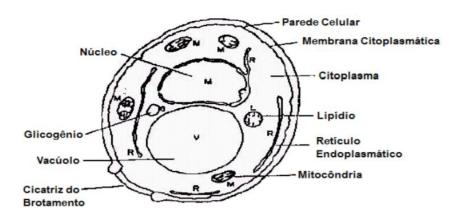


Figura 11 Estrutura geral de uma célula de levedura

Fonte: ANTONINI, 2004 apud SILVA, 2010

Além da influência do genótipo e da composição celular no processo fermentativo é fundamental a compreensão dos impactos do ciclo celular da levedura. Tratando-se da levedura cervejeira, *S. cerevisiae*, o processo de divisão celular ocorre assexuadamente por brotamento podendo ser afetado se os nutrientes forem limitados ou as células envelhecerem a ponto de não se reproduzir mais. (CARVALHO; BENTO; SILVA, 2006 apud SUHRE, 2014) O processo de brotamento é a formação de uma célula filha na superfície da célula-mãe, com posterior separação entre as células, que são idênticas geneticamente com a exceção das eventuais mutações. Durante este ciclo de brotamento, ou seja, de

divisão celular, caso haja condições para a reprodução celular (sobretudo nutrientes), a levedura inicia um processo de síntese de DNA durante o qual a célula filha se desenvolve. Na fase seguinte, a célula filha cresce expressivamente totalizando a mitose e com a divisão do núcleo. Os passos finais são a separação das células por septos, e em seguida a separação total, conforme descrito na figura 12.

A levedura, ao ser dosada, encontra-se inicialmente em estado de repouso e, ao ser inoculada em mosto saturado em O2, as células em fase estacionária reagem à presença de nutrientes, e com o passar do tempo o volume celular aumenta reduzindo a biomassa total das células, mas sem alterar o extrato do mosto inicialmente. A energia das células nessa fase vem das reservas de glicogênio. Para que a divisão celular ocorra, é essencial que haja a síntese de esteróis e ácidos graxos insaturados, e isto irá ocorrer com a utilização do oxigênio presente no mosto. Após algumas horas de inoculação, estima-se que cerca de 90% da população celular encontram-se realizando síntese do DNA, provocando o processo de brotamento e consequentemente a multiplicação celular. Nesse ponto, começam a ser detectáveis mudanças significativas na biomassa e na utilização de açúcares pela levedura. Tais processos fazem parte da preparação da levedura para suas atividades na fermentação.

Durante a fermentação, ocorrem vários ciclos de divisão celular que elevam a população. No entanto, a queda da porcentagem de brotamento indica que a divisão celular é diminuída e cessa em um ponto intermediário de fermentação, assim o teor em esteróis e ácidos graxos insaturados determina a taxa e a extensão da multiplicação celular (SUHRE, 2014). Dessa forma, a aeração do mosto é essencial para a regulação do processo de multiplicação celular, promovendo a formação de álcoois superiores. No entanto, em excesso pode levar a perdas de extrato em razão da biomassa formada e descartada tornando essencial o controle do fornecimento de oxigênio para a levedura. Sabendo-se que a solubilidade do O2 no mosto é menor do que em água devido à grande quantidade de substâncias dissolvidas, para este processo de aeração deve-se utilizar dispositivos que facilitem a dissolução no mosto. Com base na Lei de Henry, a taxa de dissolução do gás no líquido deve ser atribuída a pressão e temperatura utilizada, a área de interface líquido/gás e a turbulência na mostura, tornando assim parâmetros fundamentais para controle durante esta etapa produtiva. Um dos meios mais comuns e efetivos para uma boa dissolução é a utilização de uma corrente de bolhas de gás pequenas sob pressão, em um fluxo turbulento de mosto.

Sob certas condições, a levedura interrompe o processo de multiplicação celular e entra em um estado de menor consumo de energia, atingindo a fase estacionária. Durante esta fase as leveduras tornam-se mais resistentes ao calor, apresentam membranas mais espessas preservando seu conteúdo enzimático, apresentam também vacúolos em maior número e volume além de acumular trealose e glicogênio. Indica-se que a falta de lipídios e a floculação celular são as hipóteses mais prováveis para que a célula entre na fase estacionária antes de consumir o maior número de nutrientes do mosto. O glicogênio e a trealose são os

combustíveis principais da levedura durante esta fase, e neste ponto as temperaturas mais baixas favorecem a redução do consumo dessas fontes de energia, aumentando a chance de a levedura evitar o processo de autólise. Esta é a razão pela qual recolhe-se a levedura o mais cedo possível, quando as reservas de glicogênio são mais elevadas.

"Consequentemente, quanto maior o número de leveduras viáveis e fisiologicamente competentes na biomassa, maior será a taxa de produção de álcool ou de atenuação. Assim, os ensaios de viabilidade e vitalidade são absolutamente essenciais para avaliar a qualidade das leveduras." (SUHRE, 2014)

Os conceitos de vitalidade e os testes de vitalidade auxiliam em um entendimento melhor sobre a fisiologia da célula em estado estacionário. Para medir a vitalidade da levedura, cujo foco reside principalmente nas respostas metabólicas à adição de glicose, utiliza-se métodos como a medição do oxigênio absorvido, a produção de CO<sub>2</sub> e a medição das mudanças no pH intra ou extracelular.

Durante o envelhecimento, a morfologia das células apresenta alterações significativas. A membrana se modifica com imperfeições e acumula cicatrizes de divisão. A célula, por sua vez, armazena grânulos de lipídios, e seu tamanho aumenta progressivamente. Com o envelhecimento das leveduras, tende-se a observar um comportamento de decantação das mais velhas implicando no decréscimo da eficiência de metabolização destas, por isso, é importante realizar a seleção correta da levedura a ser recolhida para a dosagem em gerações sucessivas.

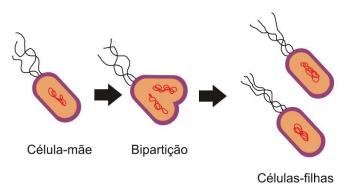
O processo de autólise proporciona impactos ao aroma e a aparência da cerveja e tem origem nos eventos intracelulares mediados por enzimas hidrolíticas, tais como proteinases e glucanases. Fatores como temperatura, pH, concentração de etanol e pressão osmótica influenciam a autólise, mas o bom gerenciamento da levedura minimizam sua ocorrência. Os produtos resultantes da autólise podem incluir substancias de peso molecular baixo (ácidos graxos, por exemplo) e de maior peso molecular (glucanos, por exemplo). Dependendo da concentração, aromas característicos deste processo podem surgir na cerveja, além da limpidez da bebida ser prejudicada pelos materiais constituintes das paredes celulares, e prejudicar também a estabilidade da espuma por causa da ação enzimática resultante da autólise, em especial das proteases liberadas na cerveja pelas células autolizadas.

Outro processo fundamental atrelado também a levedura é a floculação, sendo o processo físico de agrupamento em flocos que posteriormente sedimentam ou sobem à superfície, ocorrendo ao final do processo de fermentação, normalmente no início da fase estacionária da levedura envolvendo uma interação entre as proteínas da parede celular de uma célula e os carboidratos receptores de outra célula. Neste processo o íon cálcio é necessário para a ativação das proteínas nas paredes celulares, pois estão envolvidos na conformação das proteínas em uma estrutura adequada para que a floculação ocorra, que é comandada pela ativação das lectinas presentes na levedura (PACHECO, 2010).

A floculação facilita a separação da cerveja por sedimentação, centrifugação e filtração, reduzindo a quantidade de perdas do processo. Como este

procedimento é reversível, ao inocular novamente a levedura em outro processo fermentativo, a floculência desaparece por causa da presença de açúcares simples no mosto, como a glicose e a maltose. Os polissacarídeos presentes em maior quantidade de alguns tipos de cevada podem levar a floculação prematura, pois assim como as lectinas, esses polissacarídeos podem aderir as paredes celulares, iniciando de forma antecipada, sugerindo o grau de hidrofobicidade da parede celular como parâmetro essencial para a floculação. Uma vez que as células apresentem caráter floculento, a movimentação por convecção e pelo gás carbônico dentro do tanque favorecem a aglutinação.

Figura 12 Etapas do processo de brotamento



Fonte: Disponível no bloger Ciências Biológicas

## 3.2. Bioquímica da fermentação

Também é fundamental o entendimento dos fatores que controlam os fluxos de carbono e outros nutrientes, formando biomassa, etanol e metabólitos dado que tais componentes contribuem de modo decisivo para o aroma e o sabor da cerveja. Entender estes fatores é adentrar na bioquímica do processo para compreensão das variáveis de controle nesta etapa.

A fermentação de cervejas nada mais é que uma manifestação da multiplicação da levedura no meio de cultura ideal (mosto), implicando assim que a cerveja é o subproduto dessa atividade. Dessa forma, é possível concluir que a cepa de levedura deve não apenas estar de acordo com as propriedades desejáveis para a fermentação, mas também com a capacidade de produzir cerveja em conformidade com a composição adequada. O objetivo do gerenciamento deste processo é regular as condições para que os subprodutos da multiplicação e do metabolismo celular sejam os esperados, tanto na qualidade quanto na quantidade em tempo aceitável.

Alterar a composição do mosto é uma das alternativas para regular ao perfil desejado de fermentação, em virtude das classes de nutrientes disponíveis para que a levedura assimile, mexendo nesse equilíbrio para formar os produtos metabólicos desejados. Um bom exemplo de regulação são as alterações na curva de mostura durante a brassagem, que mudam a fermentabilidade do mosto. Assim como a escolha da levedura deve também ser baseada as respostas daquela cepa ao perfil de açúcares e ao teor de oxigênio no mosto. Todas as cepas de levedura possuem

capacidade respiratória limitada e estão sujeitas a repressão catabólica pelo carbono (OLIVEIRA, 2019). Durante a fermentação, independentemente da presença de O2, o metabolismo é sempre fermentativo, de modo que os produtos principais obtidos sejam o álcool e o CO2.

A concentração máxima de etanol que pode ser gerada na fermentação também depende da levedura, pelo seu nível de tolerância ao álcool ou pela maneira em que absorve e utiliza os diferentes tipos de açúcares contidos no mosto. Este comportamento é determinado pelas condições de processo, e usualmente a levedura é submetida a múltiplas condições de estresse para potencializar reações bioquímicas, como por exemplo altas pressões hidrostáticas, concentrações elevadas de CO2, pH baixo e água com baixa atividade. O gerenciamento da recolha, estocagem e dosagem também influenciam nos processos bioquímicos que acontecerão nas fermentações.

Analisando o comportamento bioquímico durante as etapas da fermentação já descritas anteriormente e com os conhecimentos apresentados até aqui, pode-se concluir que nas primeiras horas de fermentação a concentração de oxigênio tende a diminuir rapidamente acompanhada da quantidade de FAN (representativa do teor de aminoácidos) e o pH. Em seguida, com a fermentação acelerando, o valor do extrato aparente será inversamente proporcional a produção de etanol e biomassa, ou seja, com o valor mínimo de extrato alcançado, obtém-se os valores máximos de etanol e da biomassa. Durante a fase ativa da fermentação, a biomassa total e a contagem de células em suspensão serão próximas, e todo este comportamento está intimamente ligado ao comportamento das leveduras para a conversão dos açúcares.

Sabendo-se que a levedura pode utilizar uma grande variedade de açúcares, é importante observar quais cepas conseguem fermentar determinado tipo de açúcar, além de compreender a sequência de absorção. Os açúcares são transportados para o interior da célula da levedura por sistemas de transporte específicos para essas moléculas, que são ativados pela presença do açúcar em questão no mosto. De modo geral, a sacarose é utilizada em primeiro lugar, sendo assimilada com a mediação da invertase que hidrolisa a sacarose em frutose e glicose. Na presença de altas concentrações de glicose, a enzima invertase é inibida, determinando que o uso da sacarose é limitado ao teor de glicose em um nível não repressivo. Em seguida, o sistema de transporte de glicose assimila ambas. De modo quase que simultâneo a frutose e a glicose são utilizadas desaparecendo nas primeiras horas (OLIVEIRA, 2019).

Com a assimilação completa da glicose, inicia-se a utilização da maltose, sendo composição majoritária no mosto. A maltose é utilizada em um sistema enzimático de transporte e hidrólise (maltose, permeasse e maltase), sendo sua ativação reprimida pela presença de glicose (HERBERTS, 2006).

No entanto, outros polissacarídeos podem ser também absorvidos pelas células, assim como polissacarídeos de maior peso molecular não são utilizados pela levedura e contribuirão apenas para o corpo da cerveja final.

Alguns dos sistemas de transporte da levedura são inibidos até que a concentração do açúcar precedente, na ordem de absorção, chegue a valores mínimos. Dessa forma, a levedura regula também a utilização de açúcares. E alguns parâmetros da fermentação como as pressões osmóticas elevadas podem inibir a absorção de maltriose por exemplo, assim como os teores alcoólicos elevados inibem a absorção de todos os tipos de açúcares.

Os sistemas da levedura de maior interesse são aqueles que regulam a utilização de carboidratos e fontes de nitrogênio, além da absorção de lipídios e o aproveitamento pela levedura de íons presentes no mosto. Durante a fermentação, as fontes de nitrogênio são distribuídas pelas proteínas, polipeptídeos, aminoácidos e nucleotídeos. Entre estes compostos, os aminoácidos são os mais importantes para o desempenho da fermentação e consequentemente para a qualidade da cerveja (CARNEIRO, 2010). A absorção de aminoácidos utiliza numerosas permeases, e algumas destas permeases são reprimidas de acordo com as fontes de nitrogênio presentes no mosto. Novamente, as condições do meio também exercem efeito modulador. A elevação da pressão e da concentração de CO2, estão relacionadas também as mudanças no perfil dos aminoácidos absorvidos pela levedura, o que pode inclusive levar a alteração no perfil aromático da cerveja. Os aminoácidos comumente assimilados são: arginina, asparagina, glutamato, glutamina, lisina, serina, treonina, histidina, isoleucina, leucina, metionina, valina, alanina, glicina, fenilalanina, tirosina, triptofano e prolina. A ordem de absorção de aminoácidos é importante principalmente nos mostos com concentrações baixas em FAN, pois a formação de diversos voláteis está direta ou indiretamente relacionada a síntese dos aminoácidos. Essa síntese depende do grau e da ordem de absorção desses, como acontece entre o aminoácido valina e a formação de diacetil.

Já a absorção de lipídios está vinculada a possibilidade de assimilação pela levedura, de lipídios que necessitariam de O2 para sua síntese. Deste modo, a assimilação de esteróis e de ácidos graxos insaturados tem o potencial de reduzir a necessidade de aeração do mosto. Entretanto, se absorvidos em excesso podem acarretar em mudanças no perfil organoléptico da cerveja e alterações em gerações sucessivas do comportamento da levedura. Tais alterações ocorrem principalmente em relação a assimilação de nutrientes e a capacidade de floculação da levedura.

Além disso, alguns íons metálicos também possuem importância particular no processo cervejeiro por serem essenciais a levedura, como o zinco, magnésio e cálcio. A ausência deles no meio de cultura traz prejuízos ao metabolismo celular, principalmente por causa da grande quantidade de enzimas que precisam de algum íon metálico como cofator. A levedura pode, entretanto, acumular muitos íons metálicos sem nenhuma função fisiológica positiva causando efeitos tóxicos, como a modificação da estrutura da membrana plasmática prejudicando os mecanismos de transporte das células.

Como mencionado anteriormente durante a fermentação de cervejas, a levedura não possui atividade respiratória, mesmo com a presença de oxigênio no mosto pois quando a *S. cerevisiae* cresce na presença da glicose, a transcrição de

diversos dos seus genes é reprimida, o que modifica muitas proteínas e sistemas de transporte. Este fenômeno é chamado de repressão e inativação catabólica por carbono. As mudanças bioquímicas proporcionadas pela repressão ocasionam em mudanças na morfologia das células, que não desenvolvem mitocôndrias inteiramente funcionais, nas quais ocorreria a respiração. Ou seja, durante a fermentação de cervejas, na fase aeróbica há açúcares em concentração suficiente para que as células permaneçam no estado repressivo. Quando a concentração de açúcares cai, não há mais oxigênio disponível no mosto. Consequentemente, durante a fase aeróbica da fermentação, não acontece respiração. A alteração do perfil de açúcares, com a utilização de altos teores de glicose, pode levar a dificuldades de atenuação e produção excessiva de acetaldeído e SO2 na fermentação. Esses problemas ocorrem por conta da dificuldade da levedura de ativar o mecanismo de transporte de maltose, ou mesmo por causa da inibição de certos processos químicos por conta da concentração intracelular de glicose.

A *S. cerevisiae* possui duas classes de carboidratos reserva importantes para a fermentação, o glicogênio e a trealose. O glicogênio serve como uma reserva de energia, a ser utilizada nos períodos de ausência de nutrientes, e sua taxa de acúmulo é controlada pela taxa de multiplicação celular. A necessidade de acumulação é sinalizada pela limitação de outros nutrientes na presença de excesso de açúcares, como enxofre, nitrogênio e fósforo. Nessas situações, é possível que ocorram a acumulação e a utilização simultânea do glicogênio, com o fluxo controlado pela regulação coordenada das enzimas de síntese e de quebra dessa molécula de açúcar (AMARAL, 2009).

Quando a levedura é inoculada em mosto aerado, ocorre uma imediata utilização das reservas de glicogênio, acompanhada pela síntese de esteróis, e seu uso finaliza quando não há mais O2 no mosto. O glicogênio traz implicações importantes no processo de recolha e estocagem da levedura, pois uma vez utilizado como reserva pela levedura, precisa-se removê-la do fermentador para prevenir perdas desnecessárias dessas reservas. Resfriar o fermentador, em especial a área do fundo, ajuda a evitar a degradação de glicogênio durante a recolha. O uso de baixas temperaturas nos tanques de estocagem reduz a atividade metabólica e conserva as reservas das células.

E a trealose serve como reserva de energia, protege a célula contra condições de estresse e substancias tóxicas, tais como elevada concentração de etanol e radicais de O2. Possui uma propriedade fundamental para a levedura, que é a capacidade de conferir resistência ao calor e a falta de água. Assim como o glicogênio, a trealose é acumulada na levedura quando há limitação de nutrientes, servindo como polímero de reserva, e pode utilizar parte do glicogênio acumulado para sua síntese (AMARAL, 2009). Na levedura, tem o papel de estabilizar a membrana quando se encontra em condições de estresse citadas anteriormente.

O O2 dentre tantas funcionalidades no processo de fermentação é utilizado também para a síntese de esteróis e ácidos graxos insaturados, ambos componentes essenciais da membrana celular. Quando a fermentação começa com quantidade insuficiente, o processo é mais lento, com atenuação incompleta e baixa

multiplicação celular. Além disso, a levedura precisa, de fato, do oxigênio suplementar para tal síntese. A quantidade de O2 necessária depende da cepa de levedura, mas em geral, a levedura usa 10% do oxigênio dissolvido para síntese de esteróis e 15% para a síntese de ácidos graxos insaturados. O O2 restante é consumido em reações de oxidação dos componentes do mosto e utilizado pela levedura em outros processos.

Durante a fermentação, a quantidade de O2 fornecida regula a síntese de esteróis, e a multiplicação de células na fase anaeróbica da fermentação divide o estereol pré-formado entre as células mãe e suas descendentes. A divisão celular prossegue até que a falta de esteróis limite a multiplicação. Desta forma, a levedura recolhida não tem esteróis suficientes para este processo, e ao ser inoculada novamente necessita novamente de O2 para retomar a atividade.

No entanto, a síntese de esteróis é acompanhada pela rápida redução das reservas de glicogênio. Isto ocorre pela deficiência da membrana na absorção de fontes de carbono e energia, que são supridas nessa fase pelas reservas. Em células não reprimidas, maiores quantidades de esterol podem ser acumuladas, como no caso da propagação de levedura, por exemplo. Dentre as várias funções deste para a levedura, destacam-se a importância como lipídios estruturais, a influencia na atividade das enzimas presentes na membrana celular (como permeases e as invertases), participação no transporte de aminoácidos e proteção contra ácidos orgânicos e inorgânicos, íons metálicos e agentes antifungos.

É válido também destacas que a síntese de ácidos graxos insaturados também requer oxigênio molecular. Na levedura os predominantes são o ácido palmitoleico e o ácido oleico, além de contribuir para a fluidez da membrana, possuem efeitos na utilização dos esteróis, inibem a enzima álcool-acetil-transferase auxiliando na formação de ésteres.

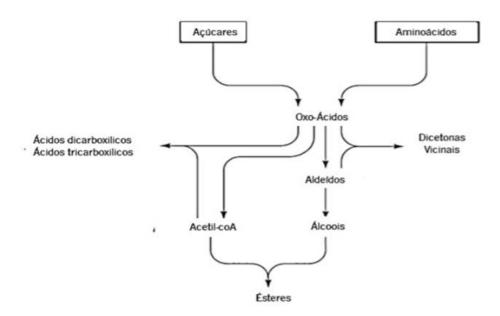
Há muitos fatores que afetam a quantidade de etanol gerada na fermentação, como citado anteriormente a tolerância da levedura ao álcool é um destes. Algumas cepas de levedura são mais predispostas por apresentarem facilidade de desenvolver mecanismos de defesa, mas esta tolerância envolve a concentração máxima que a levedura suporta sem perda expressiva de viabilidade, reflexo da habilidade da levedura em suportar o estresse provocado pela alta concentração, e o teor máximo que pode ser produzido pela levedura, resultado da maneira como as vias metabólicas são influenciadas pelo etanol. Temperatura, pressão e pH modulam também os efeitos do álcool, assim como o estado em que se encontra a levedura dosada no mosto. Desse modo, novamente as condições de estocagem são críticas para que se obtenha uma boa tolerância ao etanol em fermentações subsequentes.

#### 3.2.1.1. Impactos na formação de aroma e sabor

O álcool e o gás carbônico contribuem com a sensação de aquecimento e com a sensação tátil da cerveja, por essa razão o processo fermentativo tem impacto significativo na formação de aroma e sabor. As características essenciais do perfil organoléptico da cerveja têm origem em uma grande variedade de metabólitos da levedura formados na fermentação, alguns produtos contribuem positivamente e outros são indesejados, sendo as concentrações de percepção bem variadas entre os produtos. Na figura 13 é possível compreender as principais relações entre as classes de compostos aromáticos derivados do metabolismo da levedura.

"Os principais metabolitos secundários podem ser caracterizados em 5 grupos: álcoois, ésteres, ácidos orgânicos e ácidos gordos, compostos carbonílos (aldeídos e cetonas) e compostos de enxofre. A relação entre estas classes de metabolitos e o metabolismo dos açúcares e aminoácidos é demonstrada na figura abaixo (MAGALHÃES, 2015).

Figura 13 Relações entre as maiores classes de compostos aromáticos derivados do metabolismo da levedura



Fonte: Adaptado de BRIGGS et al., 2004 apud MAGALHÃES, 2015)

O balanço de aromas desses compostos é resultado da seleção da levedura, das condições de fermentação e da composição do mosto. Muitos desses metabólitos aparecem na cerveja quando a levedura está assimilando açúcares e outros nutrientes, de modo que em geral observa-se uma produção de ésteres mais acentuada após o término da assimilação de aminoácidos, e a concentração máxima de diacetil e álcoois superiores um pouco antes do término da assimilação. Diversos produtos da fermentação contribuem para o sabor e o aroma da cerveja, sendo alguns de forma positiva e outros como *off-flavors*. Os principais produtos são os ácidos orgânicos, álcoois superiores, álcoois aromáticos, ésteres, carbonilas e compostos aromas sulfurados que serão mencionados a seguir.

# 3.2.1.2. Ácidos orgânicos e ácidos graxos

A maioria destes ácidos são derivados do mosto e podem ser contabilizados em mais de cem tipos de ácidos orgânicos na cerveja, sendo a modulação de alguns deles realizada na fermentação indicando sua participação no metabolismo da levedura. Esses ácidos contribuem para a diminuição do pH da cerveja,

principalmente na primeira fase da fermentação. Além disso, fazem parte do perfil organoléptico, conferindo sabor ácido e em alguns casos sabores e aromas característico, como o succinato, que atribui sabor salgado ou amargo à cerveja.

As diferentes concentrações encontradas são resultado das variações na composição do mosto e também uma consequência das diferenças entre as cepas de levedura. Os teores mais elevados de alguns ácidos graxos, como o ácido caprílico, podem ser oriundos de excreção pela levedura em processo de autólise, ou por causa do efeito tóxico do etanol em altas concentrações sobre a membrana plasmática.

# 3.2.1.3. Álcoois superiores

Tratando-se dos álcoois superiores podem ser contabilizados mais de quarenta tipos. Quando estão em teores acima do limiar da percepção, podem ter importância organoléptica direta. A contribuição direta dessas substâncias corresponde a uma intensificação do aroma e do sabor alcóolico (KUNZE, 1999 apud CARNEIRO, 2010), conferindo sensação de aquecimento ao paladar. Por outro lado, a interferência indireta dos álcoois superiores ao perfil aromático da cerveja se dá por sua participação como precursores dos ésteres formados na fermentação.

"De acordo com Kunze (1999), existem diversos meios para a formação dos álcoois superiores no processo cervejeiro. Um meio é a conversão dos aminoácidos presentes no mosto para álcoois superiores através da desaminação, descarboxilação e redução. Os álcoois superiores também podem ser formados através dos intermediários dos cetoácidos e dos hidroxiácidos" (CARNEIRO, 2010).

A formação de aminoácidos por via anabólica ou catabólica depende de diversos fatores, em especial da quantidade de aminoácidos assimiláveis do mosto, já que, em baixas concentrações, a via anabólica é preferida. O controle da formação de álcoois superiores na cerveja pode ser feito de três maneiras: pela escolha da levedura apropriada, pela modificação da composição do mosto ou pela manipulação das condições de fermentação. Diversas cepas de levedura apresentam variações na produção desse tipo de álcool em si maiores que as proporcionadas pelas possíveis manipulações das condições da fermentação e do mosto. Como visto, a composição do mosto tem influência na formação de álcoois superiores, particularmente seu teor de aminoácidos (FAN). Quanto maior esse valor, maior tendência de produção de álcoois superiores. De modo geral, todas as condições de composição do mosto e os parâmetros de fermentação que favoreçam a multiplicação celular promovem também um aumento da formação destes álcoois superiores.

#### 3.2.1.4. **Ésteres**

Os ésteres estão entre os compostos mais importantes para o aroma da cerveja, todos provenientes da fermentação (CARNEIRO, 2010). Essas substâncias

contribuem com notas florais e frutadas para o sabor da cerveja. Os ésteres mais importantes do ponto de vista organoléptico são:

Tabela 2 Perfil aromático dos ésteres

Ésteres	Aroma associado
Acetato de Etila	Frutado
Acetato de Isobutila	Frutado/Banana
Acetato de Isoamila	Banana
Hexanoato de Etila	Maçã/Anis
Butirato de Etila	Frutas tropicais
Acetato de fenil-etila	Rosas/Mel/Maçã

Fonte: Autoria Própria.

A biossíntese de ésteres durante a fermentação de cervejas ocorre por uma reação enzimática que envolve um álcool (etanol ou álcool superior) e acil-CoA. Duas classes de enzimas são as principais envolvidas, a acil-CoA-sintetase e as álcool-acil-transferases (CARNEIRO, 2010).

A concentração de FAN pode interferir na absorção de aminoácidos e formação de álcoois superiores correspondentes aos aminoácidos absorvidos, alterando posteriormente o balanço de ésteres na cerveja, mas não necessariamente a sua quantidade.

Uma das teorias sobre a formação de ésteres diz respeito a utilização de Acil-CoA pela levedura. A disponibilidade desse substrato seria limitante para a formação de ésteres. Durante a fase de multiplicação celular, devido a sua utilização na síntese de esteróis e ácidos graxos insaturados, haveria pouco Acil-CoA restante para a síntese de ésteres. Os efeitos dos parâmetros da fermentação na síntese pela levedura parecem estar relacionados principalmente a regulação/inibição da atividade das álcool-acil-transferases (AAT), enzimas de difícil análise em razão de sua instabilidade em laboratório. No entanto, já foram identificados com precisão alguns fatores que inibem tais enzimas, reduzindo a formação de ésteres, como: presença de lipídios, em especial ácidos graxos insaturados; presença de oxigênio por mais tempo no mosto, com a adição sucessivas fabricações de mosto aerado no tanque de fermentação; temperaturas mais baixas de fermentação; pressão mais elevada, reduzindo a formação de álcoois superiores. Dessa forma, quando o teor de ácidos graxos insaturados é mais alto, a síntese ocorre a taxas bem menores, o que corresponde ao período mais ativo da multiplicação celular. Da metade para o final da fermentação primária, esse processo de síntese aumenta, pois, a taxa de multiplicação celular reduz, por consequência a inibição provocada pelos ácidos graxos insaturados.

A quantidade relativa de cada éster depende da cepa de levedura utilizada. E relacionado ao controle da formação de ésteres envolve-se o controle da temperatura, controle da intensidade e da extensão da aeração, controle do nível de enchimento dos tanques, além da seleção da levedura.

#### 3.2.1.5. **Carbonilas**

Os compostos mais importantes do ponto de vista organoléptico são o acetaldeído, entre diversos aldeídos, e as dicetonas vicinais, em especial o diacetil (butanodiona). Os aldeídos possuem concentrações de percepção significativamente mais baixas que as dos seus respectivos álcoois. Dependendo do composto, possuem aromas desagradáveis, com notas de grama cortada, folhas verdes e papelão. Os aldeídos estão em concentração elevada no mosto, mas durante a fermentação, essa característica desparece (CARNEIRO, 2010). Além dos aldeídos do mosto, outros são formados como resultado do metabolismo da levedura, que também utiliza boa parte dos aldeídos, reduzindo-os em álcool. Uma parte dessas substâncias é também arrastada pelo CO2 durante a fermentação.

O acetaldeído deve ser considerado separadamente dos aldeídos de cadeia longa, pois apresenta importância no processo de formação de etanol. Em algumas circunstancias, essa carbonila pode permanecer na cereja em concentrações acima do limiar de percepção, sendo considerada um *off-flavor*. A formação de acetaldeído na cereja ocorre entre o início e o meio da fermentação, durante a fase mais ativa da multiplicação celular. Mais tarde, na fase estacionária, os níveis geralmente diminuem. Na cerveja final, a oxidação do etanol poderá levar ao aumento da concentração também.

Níveis elevados de acetaldeído na cerveja são frequentemente associados ao fraco desempenho fermentativo da levedura, isto pode ocorrer devido ao uso de parâmetros inadequados, como temperaturas demasiadamente elevadas, aeração excessiva e altas taxas de inoculação. O aspecto mais comum quando a formação de acetaldeído é elevada é o mau estado da levedura, seja por causa da floculência ou por causa das condições de estresse provocadas pelos parâmetros de fermentação. Outro fator que propicia o aumento dessa carbonila indesejada é o gerenciamento inadeguado da levedura nos processos de recolha e dosagem.

As dicetonas vicinais mais importantes para a cerveja são o diacetil 2,3-butanodiona e a 2-3-pentanodiona (CARNEIRO, 2010). Ambos possuem aroma semelhante a manteiga, mas a concentração de percepção do diacetil, é bem menor que a da pentanodiona, que geralmente se encontra na cerveja em concentrações não perceptíveis.

Nas cervejas claras, tipo Lager, o diacetil é considerado um off-flavor. Sua formação e absorção consistem nos principais aspectos de qualidade controlados durante a fermentação. A ocorrência de valores altos de diacetil na fermentação pode ser resultado de contaminação microbiológica. Além da contaminação, que deve ser tratada de maneira apropriada, o diacetil também é formado como resultado do metabolismo da levedura. O processo de formação e absorção de diacetil na cerveja apresenta três fases distintas. A primeira ocorre dentro da célula da levedura, associada a biossíntese do aminoácido. Nessa via metabólica é formado o alfa-acetato-lactato (AAL), que é produzido em excesso e parcialmente excretado pela levedura na cerveja. A segunda etapa corresponde a uma reação espontânea, não enzimática, mais lenta. Nela o AAL sofre uma descarboxilação

oxidativa fora da célula, formando o diacetil. Da metade para o final da fermentação ocorre a última etapa, em que a levedura utiliza o diacetil extracelular reduzindo-o. Desde que as condições sejam favoráveis, esta fase também é bastante rápida. (CARNEIRO, 2010).

Geralmente, a etapa determinante para o teor de diacetil final da cerveja é a segunda. Por isso, as análises de mosto se referem a dicetonas totais, e representam a soma do diacetil e pentanodiona formados, mais seus precursores. Na prática, isto requer um aquecimento da amostra para a conversão completa dos precursores em diacetil. A formação dos precursores está intimamente relacionada ao metabolismo de aminoácido, tanto a quantidade total de FAN do mosto quanto o espectro dos aminoácidos absorvidos são importantes. A presença de valina inibe sua síntese pela célula.

Desta forma, um teor muito baixo em FAN pode levar a um segundo pico na curva de concentração de precursores, pois nesse caso a levedura, após absorver a pouca quantidade de valina presente no mosto, precisará sintetizar ainda mais para satisfazer sua necessidade de aminoácido. De um modo geral, os fatores que incentivam a multiplicação celular favorecem a formação dos precursores do diacetil na fermentação. A transformação do precursor (AAL) em diacetil é favorecida então por pH mais baixos, temperaturas elevadas e a presença de íons metálicos. (CARNEIRO, 2010).

O uso da temperatura um pouco mais elevadas ao final da fermentação favorece a conversão do precursor, o que é favorável do ponto de vista do processo, pois a levedura rapidamente reabsorve o diacetil formado. Se a levedura estiver em bom estado fisiológico, a absorção e a redução do diacetil são favorecidas. Da mesma maneira, o uso de leveduras menos floculentas geralmente leva a uma rápida reabsorção e redução do diacetil.

#### 3.2.1.6. Compostos de enxofre

Muitos compostos orgânicos e inorgânicos com enxofre contribuem para o perfil organoléptico da cerveja. Alguns deles são originados do mosto e persistem inalterados na cerveja, e outros são influenciados pelo metabolismo da cerveja. Dentre os produtos mais importantes estão o dióxido de enxofre (SO2) e o sulfeto de hidrogênio (H2S). Em baixas concentrações, podem trazer uma contribuição positiva para a cerveja, mas em níveis mais altos tornam-se *off-flavors*. Os efeitos indiretos no aroma estão relacionados aos compostos de enxofre por sua capacidade de se combinar, de maneira reversível, com outras substancias, em especial com os compostos cabonilados (MAGALHÃES, 2015).

O SO2 presente na fermentação pode formar complexos com aldeídos como o acetaldeído, responsáveis pelos aromas de envelhecimento da cerveja. Na forma complexada, o SO2 mascara os aromas desses compostos. Além disso, possui ação antioxidante, contribuindo com a estabilidade do sabor da cerveja.

O H2S também formado na fermentação, possui uma concentração de baixa percepção, e seu aroma lembra ovo podre. Durante a fase inicial, o H2S é

acumulado, e sua concentração cai ao final da fermentação. O arraste pelo CO2 de compostos de enxofre tem papel importante para a determinação do residual da cerveja. A quantidade formada depende da levedura utilizada, porém pode ser aumentada por deficiências de aminoácidos no mosto ou pelo mau estado da levedura. O H2S pode também ser resultado da degradação de aminoácidos contento enxofre, provenientes da autólise da levedura.

A formação de SO2 é influenciada durante a fermentação pela composição do mosto; pela aeração mais intensa ou presença de lipídios (trub), reduzindo a formação de SO2; pela levedura em mau estado, aumentando a formação de SO2. Estas relações podem ser explicadas pela extensão da multiplicação celular e por sua influência para assimilação de nutrientes.

A biossíntese de SO2 a partir de sulfato requer energia metabólica, dessa forma, uma fonte de açúcar é requerida, assim os mostos mais concentrados oferecem maior acúmulo de SO2. Os aminoácidos presentes no mosto inibem a síntese de SO2 a partir do sulfato, ou seja, a relação açúcares fermentáveis/FAN exerce papel fundamenta na modulação da síntese.

Os fatores que aumentam a extensão do crescimento celular e que, portanto, favorecem a utilização de aminoácidos por mais tempo, também reduzem indiretamente a formação de SO2. Já a levedura em mau estado limita a extensão do crescimento e permite maior produção a partir do sulfato.

O sulfeto de dimetila (DMS), outro componente importante para o perfil aromático da cerveja, pode ser formado em maior ou menor grau a depender da levedura a partir do DMSIO presente no mosto. Isto ocorre principalmente se houver deficiência de metionina. Essa reação envolve a enzima DMSO-redutase e pode ter maior ou menor relevância para o teor final de DMS, de acordo com a cepa de levedura. Essa via de formação de DMS é mais importante quando ocorre contaminação por bactérias ou leveduras selvagens (MAGALHÃES, 2015).

#### 3.3. Sistemas de fermentação

Os sistemas de fabricação têm sido testados pela indústria cervejeira, a maior parte em escala piloto, com uma grande diversidade de reatores, tanques, materiais e processos de imobilização e separação de levedura. Mas de modo geral, o material mais empregado na construção destes equipamentos é o aço inoxidável por ser mais resistente a corrosão, possuir uma boa condutividade térmica, além da durabilidade e da facilidade de higienização. Embora os tanques de fermentação e linhas de cerveja, fermento e mosto não possam ser esterilizados, devem ser limpos e sanitizados para permitir a maior redução possível de contaminantes. Além disso, toda a instalação deve ter fácil acesso a limpeza mecânica, seja manualmente, seja através de soluções de limpeza com fluxo turbulento adequado para a remoção de sujeira.

A capacidade dos tanques deve estar relacionada ao volume de mosto que deseja-se produzir em cada batelada. E o tempo de enchimento total do tanque, da primeira fabricação até o final de enchimento, deve ter o mínimo possível de

variação, pois a variação exagerada trará mudanças significativas no perfil organoléptico da cerveja.

Para gerenciar o processo fermentativo devem ser estabelecidos controles e monitoramentos adequados como: a definição do conjunto de condições iniciais (volume do mosto, extrato, oxigênio dissolvido, taxa de inoculação de levedura, temperatura e etc.); monitoramento do progresso da fermentação e aplicação de controles para assegurar a obediência do processo aos parâmetros definidos; e parâmetros para identificação do término de cada etapa de fermentação e ações a seguir para o início da fase seguinte. Na medição do progresso da fermentação, o controle mínimo necessário corresponde a medição da evolução do extrato e da temperatura, e pode-se complementar com análises da contagem de células em suspensão e metabólitos, como as dicetonais totais.

Uma vez iniciada a fermentação no tanque, o único método de regular a taxa de fermentação é através do controle da temperatura, resfriando a cerveja para contrabalançar o metabolismo exotérmico da levedura em multiplicação. Dessa forma, a instalação e manutenção adequada de sistemas de monitoramento de temperatura são fundamentais.

### 3.4. Gerenciamento da fermentação

O gerenciamento deste processo envolve o controle de diversas etapas como controle de recebimento, aeração e/ou volume que serão explorados a seguir com ênfase nas características fundamentais destes processos para a garantia da qualidade da cerveja.

Logo no recebimento do mosto precisa-se observar parâmetros como volume, extrato, temperatura, condição microbiológica, controle de aeração, da dosagem de levedura, do tempo total de enchimento, de eventuais adições no mosto, além de uma preparação prévia dos tanques para recebimento do líquido para identificar as condições inicias do processo viabilizando a modulação ao perfil organoléptico desejado.

A regulação da concentração de oxigênio no mosto é parte fundamental para o controle da multiplicação da levedura, pois gera impacto direto na formação de biomassa e na formação de voláteis. Uma maneira de influenciar a solubilidade de O2 e concentração do mosto é provocando mudanças de temperatura no processo juntamente com dosagem de ar ou oxigênio. E não só a concentração de oxigênio é importante, mas também o tempo em que a levedura permanecerá em contato, sendo necessário o ajuste da aeração de modo a evitar desvios na taxa de multiplicação celular e formação de voláteis, ambos diretamente influenciados pela presença de oxigênio dissolvido no mosto.

Tratando-se do controle do extrato e do volume no recebimento do mosto, a importância fica principalmente ligada ao controle da qualidade da fermentação e o cálculo das perdas no processo. No entanto, o controle de dosagem de levedura está relacionado a concentração de células, pois com esta análise torna-se possível calcular o volume ou a massa a ser dosada ao fermentador para atingir a taxa de

inoculação desejada, de acordo com o volume total e concentração do mosto recebido.

Uma vez estabelecidas as taxas de inoculação e aeração, no acompanhamento da fermentação, podemos destacar os seguintes aspectos: controle da taxa de fermentação através do controle da temperatura; acompanhamento do progresso da fermentação pela leitura do extrato; e definição do momento do término da fermentação primária.

A medição do extrato ao longo da fermentação é o método mais comum para acompanhar o progresso da fermentação, mas existem parâmetros auxiliares como o pH, por exemplo, para sinalizar eventuais desvios no processo. A escala de medição mais comum é a de graus Plato, baseada em tabelas relacionando a quantidade de extrato (basicamente açúcares) em gramas contida em 100 gramas de mosto, e as medições costumam ser feitas por densímetros ou sacarômetros calibrados.

Na fermentação, em especial em cervejas Lager, quando a concentração em dicetonas vicinais totais cai abaixo do máximo permitido determina-se o final da fase de fermentação primária, iniciando o procedimento de recolha da levedura e o resfriamento para a fase de maturação, desde que obedecidos os demais parâmetros de controle, como, por exemplo, o tempo mínimo de fermentação e a distância entre o extrato aparente e o extrato aparente final da cerveja.

As interações entre dosagem de levedura, temperatura e oxigênio dissolvido são complexas durante a fermentação. Essas variáveis influenciam a eficiência do processo. Embora a composição do mosto e a levedura escolhida sejam fatores determinantes para a formação do perfil organoléptico da cerveja, essas interações complexas entre os demais parâmetros influenciam a formação de produtos do metabolismo da levedura. Seja qual for a solução adequada para a dosagem, deve ser planejada de modo a produzir uma fermentação na velocidade ideal, obter o perfil de voláteis adequados, conseguir preservar um bom estado da levedura ao final da fermentação, e evitar o excesso de formação de biomassa (perda de extrato). A seleção do ponto ótimo na fermentação de cervejas relaciona a fermentação mais rápida com a perda de eficiência pela geração de mais biomassa, embora seja verdade que taxas elevadas de inoculação provoquem fermentação acelerada e baixa formação de biomassa, essa opção é comumente descartada pela formação de perfis aromáticos indesejados, além de prejudicar o estado da levedura para uso futuro.

De modo generalizado, pode-se atribuir a temperatura um efeito primário na velocidade da fermentação, pois influencia a taxa de multiplicação celular e a velocidade das reações metabólicas. Baseado nisto, é possível supor que é vantajoso fermentar a cerveja na temperatura mais alta possível, no entanto, diversos outros fatores impedem o uso de temperaturas tão elevadas. A perda de voláteis ocorre em toda fermentação, pois são arrastados pelo CO2, mas, nessas temperaturas, as perdas seriam inaceitáveis, e incluiriam até mesmo algum etanol. Além das características da cepa, a temperatura exerce influência pelo aumento da fluidez da membrana, da taxa de multiplicação celular, e na formação de álcoois

superiores. Desde que não haja outras restrições, a formação de ésteres também é favorecida, pela maior atividade da enzima álcool-acil-transferases. Em fermentações realizadas sob temperaturas elevadas devem ser levados em consideração a formação excessiva de espuma no tanque pela velocidade maior de fermentação e os riscos de autólise da levedura já sedimentada no fundo cônico dos tanques.

No caso do teor de oxigênio dissolvido pode-se atribuir a extensão da multiplicação celular, devendo haver um compromisso entre a velocidade da fermentação e a geração de biomassa, para evitar a formação excessiva de levedura que prejudicaria o rendimento da fermentação. Ao promover o crescimento celular, o oxigênio também promove a formação de certos voláteis, como os álcoois superiores, e por sua ação ou dos ácidos graxos insaturados formados limita a formação de ésteres. Dessa forma, o teor inicial de O2 dissolvido e o tempo total em que ocorre a presença de O2 durante o enchimento do tanque devem ser considerados como ferramentas na regulação da formação de ésteres.

Além disso, deve-se observar também os efeitos da pressão durante a fermentação, comumente apresentados de três formas: a pressão osmótica a que estão sujeitas as células de levedura, a pressão hidrostática pela altura da coluna de cerveja no tanque e a pressurização aplicada ocasionalmente (HERBERTS, 2006). A pressão osmótica não causa prejuízo a levedura, e poderia ser usada como estratégia para o controle da formação de ésteres, no entanto, isto prejudicaria a volatilização e o arraste de outros compostos, como, por exemplo DMS e o H2S. Seus efeitos somam-se aos da pressão hidrostática, aumentando a concentração de CO2 dissolvido, o que inibe uma série de reações na célula, limitando a multiplicação celular e a formação de álcoois superiores. De um modo geral, pressurizam-se os tanques apenas para assegurar uma boa captação de CO2.

Por fim, observar e controlar o processo de recolha da levedura, resfriamento e separação pós-fermentação são etapas críticas para assegurar posteriores fermentações eficientes. O modo como a levedura é recolhida após a fermentação deve prevenir contaminações microbiológicas, minimizar o estresse para a levedura e selecionar a melhor porção da recolha para reutilização. A planta de recolha e armazenamento deve minimizar as forças de cisalhamento ou mudanças de pressão abruptas nos processos, além de manter a baixas temperaturas a fim de reduzir a atividade metabólica da levedura. A soma de condições de estresse por tempo estendido provoca a excreção de metabólitos e eventuais autólises, causando *off-flavors*. Quando há o resfriamento da cerveja e a separação de levedura tende o número de processos biológicos na maturação a zero.

# 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O processo produtivo da cerveja possui um grau de complexidade elevado se considerarmos todos os diversos fatores que influenciam a qualidade do

processo, exigindo monitoramento completo de todas as etapas produtivas e controle dos principais parâmetros operacionais (temperatura, pressão, vazão, pH, etc.) a fim de garantir ao consumidor um produto final de qualidade. Dentre as etapas produtivas, a fermentação assume o papel crítico dado que a formação de álcool, de dióxido de carbono e o início da configuração sensorial da cerveja, através da formação de ésteres, aldeídos, ácidos voláteis, etc., oriundos do metabolismo das leveduras.

O estudo da etapa fermentativa e de suas consequências é fundamental para a compreensão dos impactos na qualidade do produto final, pois viabiliza a determinação das condições ótimas do processamento e reaproveitamento dos insumos utilizados, como a levedura, por exemplo. Nesta etapa, existem diversos fatores que influenciam a fermentação do mosto cervejeiro, como citados ao longo do trabalho, de maneira geral, deve-se observar as cepas de levedura a serem utilizadas no processo, a composição do mosto cervejeiro e as condições operacionais. No entanto, se adentrarmos nos micros impactos de qualidade no processo, será notável a importância da compreensão dos fatores que interferem no rendimento da fermentação alcoólica, principalmente no processo vital das leveduras. Uma vez afetada a vitalidade e viabilidade celular, o processo torna-se gradativamente mais lento e com porcentagens de perdas cada vez mais elevadas. além de proporcionar maiores chances de contaminação bacteriana, implicando diretamente na produção alcoólica e em todas as características organolépticas da cerveja. Assim, considerando a importância do processo fermentativo na qualidade final da cerveja, conhecer os fatores com capacidade de prejudicar o perfil esperado produzido e viabilizar meios de controle e monitoramento do processo são essenciais para habilitar novos estudos e práticas de otimização operacional.

# REFERÊNCIAS

A IMPORTÂNCIA DE CONTROLA O OXIGÊNIO NA CERVEJA - MOSTO. JT Instrumentação e Processos, 2020. Disponível em: <a href="https://jtip.com.br/a-processos">https://jtip.com.br/a-processos</a>, 2020. Disponível em: <a href="https://jtip.com.br/a-proces

- importancia-de-controlar-o-oxigenio-na-cerveja-mosto/>. Acesso em: 01 nov. 2021.
- ABOUMRAD, et al. **Análise e simulação das operações de mosturação e fermentação no processo de produção de cervejas**. Trabalho de conclusão de curso Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2015.
- AFONSO, J. C.; ROSA, N. A.; **A química da cerveja**. Revista Química Nova Escola, São Paulo, Vol. 37, N° 2, p. 98-104, maio, 2015.
- ANDRADE, C. J; MEGA, J. F; NEVES E. **A produção da cerveja no Brasil**. Revista Ciência, Tecnologia, Inovação e Oportunidade, Vol 1, N° 1, p. 34-41, out 2011.
- ANDRADE, Heloisa. **Influência da água cervejeira sobre o perfil sensorial das cervejas artesanais de alta fermentação**. 2019. p. 20. Trabalho de Conclusão de Curso Universidade Federal Rural do Semiárido, Pau dos Ferros, 2019.
- AMARAL, F. S. Influência conjunta do pH, temperatura e concentração de sulfito na fermentação alcoólica de mostos de sacarose. Dissertação Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009.
- ARAÚJO, F.B.; SILVA, P.H.A.; MINIM, V.P.R. **Perfil sensorial e composição físico-químicas de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado brasileiro**. Revista Ciência Tecnologia Alimentícia, Campinas, vol 23, N° 2, p. 121-128, ago., 2003.
- BENTO, C. V; CARVALHO, G. B. M; SILVA, J. B. A. Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 1ª parte As leveduras. Revista Analytica, São Paulo, N° 25, p. 36-42, nov., 2006.
- BIURRUN, Roberto. **Tina filtro vs filtro prensa: uma questão não apenas filosófica**. Engarrafador Moderno, 2017. Disponível em: < https://engarrafadormoderno.com.br/processos/tina-filtro-vs-filtro-prensa-umaquestao-nao-apenas-filosofica>. Acesso em: 25 out. 2021.
- BRIGGS, Dennis E.; BOULTON, Chris A. Boulton; BROOKES, Peter A.; STEVENS, Roger. **Brewing Science and Practice**. Washington, DC. CRC Press. 2004.
- BUSCH, J. **More Beer**. 2015. Disponível em: <a href="https://www.morebeer.com/articles/advancedmasching">https://www.morebeer.com/articles/advancedmasching</a> >. Acesso em: jun. 2021.
- CARNEIRO, D. D. Estudo computacional da etapa fermentativa da produção de cerveja e proposta de uma estratégia de controle para o processo. Dissertação Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2010. CARVALHO, L. G. Dossiê Técnico. **Produção de Cerveja**. Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, mar. 2007.

- **CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**. [s. d.]. Disponível em: <a href="http://profaerica-ciencias.blogspot.com/2016/08/reproducao.html">http://profaerica-ciencias.blogspot.com/2016/08/reproducao.html</a>. Acesso em: 15 nov. 2021.
- CORDEIRO, A. R.; PRESTES, G. **Tecnologia da Fabricação de Cerveja**. In: VI Semana de Tecnologia em Alimentos. Trabalho acadêmico Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2008. Disponível em: < https://silo.tips/download/tecnologia-da-fabricaao-de-cerveja>. Acesso em 25 out. 2021.
- DE KEUKELERIE, D. **Fundamentals of beer and hop chemistry**. Química Nova, n. 23, p. 108-112, 2000.
- DRAGONE, G.; MUSSATI, S.I.; SILVA, J.B.A. **Utilização de mostos concentrados na produção de cervejas pelo processo contínuo: novas tendências para o aumento da produtividade**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, n. 27, p. 37-40, 2007.
- DRAGONE, G; ALMEIDA E SILVA, J. B. **Cerveja**. In: VENTURINI FILHO, W. G. Bebidas Alcoólicas: ciência e tecnologia. São Paulo: Edgar Blücher, 2010. cap. 2, p. 15-50.
- FERMENTAÇÃO: COMO A MICROBIOLOGIA ESTÁ PRESENTE NA CERVEJA. Kasvi, 2021. Disponível em: < https://kasvi.com.br/fermentacao-a-microbiologia-da-cerveja/>. Acesso em: 02 nov. 2021.
- FILHO, C. H. B. S. Isolamento e identificação de leveduras Saccharomyces cerevisiae de frutos de citrus x limonia com capacidade de fermentação de mosto cervejeiro. Trabalho de Conclusão de Curso Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.
- FILIPE, N. A. A. O. **Melhoria do Indicador Microbiológico da Fermentação e da Filtração**. 2019. 118 f. Dissertação de Mestrado Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2019.
- FOUST, A. S. et.al. **Princípios das Operações Unitárias**. 2ª ed. Rio de Janeiro, LTC, 1982.
- HERBERTS, R. A. **Transporte ativo de α-glicosídeos: uma metodologia para avaliar a vitalidade de leveduras cervejeiras**. Dissertação Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.
- HUGHES, Greg. **Cerveja feita em casa**. 2014. Disponível em: < https://publifolha.folha.uol.com.br/catalogo/livros/137003/>. Acesso em: 29 out. 2021.
- MACEDO, Natalia. **Brasil é o 3° país que mais consome cerveja no mundo**. Edição do Brasil, 2021. Disponível em: <a href="http://edicaodobrasil.com.br/2021/06/11/brasil-e-o-3o-pais-que-mais-consome-cerveja-no-mundo/">http://edicaodobrasil.com.br/2021/06/11/brasil-e-o-3o-pais-que-mais-consome-cerveja-no-mundo/</a>>. Acesso em 19 out. 2021.

- MAGALHÃES, J. G. Maturação de uma cerveja artesanal em barrica de carvalho: caracterização química e sensorial. Dissertação Universidade do Minho, Braga, 2015.
- MEDEIROS, Claudio Dantas. **Efeito de variáveis de processo no tempo de fermentação da cerveja e na concentração das dicetonas vicinais totais (TVDK)**. 2010. 74 f. Dissertação de Mestrado Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2010.
- MENEGUETTI, M. P.; ROLIM, T. F.; SALIMBENI, J. 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.
- **MOINHO DE MARTELOS**. AgroAds, 2012. Disponível em: < https://www.agroads.com.br/moinho-de-martelos\_58262.html>. Acesso em: 28 out. 2021.
- MUZZOLON, E. et al. **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Ed 3. São Paulo, 01 de abr. 2021. Disponível em: <a href="https://www.editoracientifica.org/articles/code/210203295">https://www.editoracientifica.org/articles/code/210203295</a>. Acesso em: 21 out. 2021.
- OLIVEIRA, C. J. A; ARAÚJO, F. C; SERRANO, H. L. **Estudo do uso de adjuntos em mosto cervejeiro**. 2015. 83 f. Trabalho de Conclusão de Curso Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2015.
- OLIVEIRA, N. A. M. Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja. Monografia Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011. Disponível em: < https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUOS-99VHHA/1/195.pdf>. Acesso em 02 nov. 2021.
- OLIVEIRA, P. S. **Estratégias para produção de leveduras cervejeiras**. Dissertação Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.
- PACHECO, T. F. Fermentação alcoólica com leveduras de características floculantes em reator tipo torre com escoamento ascendente. Dissertação Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010.
- PALMER, John J. How to brew: everything you need to know to brew beer right the first time. Brewers Publications, 2006.
- RAMINHOS, Renato. **Filtração**. SlidePlayer, 2016. Disponível em: < https://slideplayer.com.br/slide/10770442/>. Acesso em: 28 out. 2021.
- REINOLD, M. R. A filtração da cerveja. Cervesia, 2015. Disponível em: < https://www.cervesia.com.br/artigos-tecnicos/>. Acesso em: 03 nov. 2021.
- ROCHA, J. R. T. **Fermentação Alcoólica na indústria cervejeira**. 2006. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso Instituto Superior de Educação, Praia, 2006.

- SANTOS, S. P. Os primórdios da Cerveja no Brasil. Ateliê Editorial, 2005.
- SCHWARZ, Alexander; WECKL, Alexander. **Tipos de malte: como utilizá-los**. Engarrafador Moderno, 2019. Disponível em: <a href="https://engarrafadormoderno.com.br/ingredientes/tipos-de-malte-como-utiliza-lo">https://engarrafadormoderno.com.br/ingredientes/tipos-de-malte-como-utiliza-lo</a>>. Acesso em 21 out. 2021.
- SILVA, J. V. Avaliação do rendimento em massa de extrato de levedura em função da variação do pH e temperatura de autólise. 2010. p. 18. Trabalho de Conclusão de Curso Fundação Educacional do Município de Assis, Assis, 2010.
- SILVEIRA, S. O. **Fabricação de Cerveja**. Trabalho acadêmico Faculdades Integradas de São Paulo, São Paulo, 2015. Disponível em: < https://xdocs.com.br/doc/atividade-5-fabricaao-de-cervejadocx-qnjj3y6ld9n6>. Acesso em: 01 nov. 2021.
- SUHRE, T. Controle de qualidade em microcervejarias: avaliação de viabilidade, vitalidade e contaminantes em leveduras cervejeiras. Monografia Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.
- TELEGINSKI, Fabio. **Moagem do Malte**. Engarrafador Moderno, 2018. Disponível em: < https://engarrafadormoderno.com.br/processos/moagem-do-malte>. Acesso em: 25 out. 2021.
- TOZETTO, L. **Produção e caracterização de cerveja artesanal adicionada de gengibre (zingiber officinale)**. Dissertação de Mestrado Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2017. Disponível em: <a href="https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/2451">https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/2451</a> >. Acesso em: 25 out. 2021.
- **TROCADORES DE CALOR DE PLACAS**. Vapor para La Industria, 2019. Disponível em: <a href="https://pt.vaporparalaindustria.com/Trocadores-de-calor-deplacas-que-s%C3%A3o-seus-tipos-e-funcionalidades/">https://pt.vaporparalaindustria.com/Trocadores-de-calor-deplacas-que-s%C3%A3o-seus-tipos-e-funcionalidades/</a>. Acesso em: 01 nov. 2021.
- VARNAM, A. H; SUTHERLAND, J. P. Bebidas. Espanha: Acribia, 1997, 487 f.
- ZAGO, Patrick. **Estudo de um trocador de calor para produção artesanal de cerveja**. 2018. p. 12-14. Trabalho de Conclusão de Curso Universidade Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2018.