

# Leveduras e produção de cervejas - Revisão

BORTOLI, Daiane A. da S.  
SANTOS, Flávio dos  
STOCCO, Nádia M.  
ORELLI Jr., Alessandro  
TOM, Ariel  
NEME, Fernanda F.  
NASCIMENTO, Daniela Defavari do

## Resumo

A disponibilidade de literatura científica abordando o uso de leveduras na produção de cervejas é muito escasso, por esta razão, este trabalho visa reunir em poucas páginas informações relevantes sobre: 1) o cultivo e multiplicação de leveduras, como cuidados e procedimentos disponíveis para análise de viabilidade, pureza, caracterização, propriedades e crescimento celular; 2) características e importância de cada etapa do processo de produção de cervejas, desde a moagem do malte, mosturação ou brassagem, filtração do mosto, fervura, fermentação e maturação da cerveja; e 3) análises química e sensorial que determinam a qualidade da cerveja.

**Palavras-Chave:** Leveduras; Meios de Cultura; Cerveja.

## Abstract

The availability of scientific literature concerning the use of yeast in beer production is very scarce. For this reason, this work aims in a few pages to summarize relevant information about: 1) the cultivation and propagation of yeast, and the procedures available for analyzing its viability, purity, characterization, properties and cell growth; 2) the characteristics and importance of each step in the beer production process, including malt milling, lautering, mashing, boiling, brewing, fermentation and maturation; and 3) sensory and chemical analyses that determine the quality of the beer.

**Keywords:** yeast, culture medium, beer.

## Resúmen

La disponibilidad de literatura científica que aborda el uso de la levadura en la producción de cerveza es muy escasa, por esta razón, este trabajo tiene como objetivo reunir la información pertinente en pocas páginas sobre: 1) el cultivo y la propagación de la levadura, como la atención y los procedimientos disponibles para el análisis de viabilidad, pureza, caracterización, propiedades y el crecimiento celular; 2) las características y la importancia de cada paso en el proceso de producción de cerveza, moler la malta, sacarificación o maceración, filtración, ebullición del mosto, fermentación y maduración de la cerveza; y 3) análisis químicos y sensorial que determinan la calidad de la cerveza.

**Palabras clave:** Levaduras, medios de cultivo, cerveza.

## 1 INTRODUÇÃO

Os microrganismos estão presentes em todas as partes, solo, água, ar, alimentos, insetos e animais, exercendo grandes influências nas atividades humanas. Entre a vasta diversidade de microrganismos, a levedura tem estado com o homem há muitos séculos, sendo usada na fermentação de sucos a base de frutas e para levedar pães, há cerca de 30 mil anos. Dada a diversidade de atividades biológicas, as leveduras se tornaram candidatas promissoras para uma ampla gama de aplicações, não se limitando ao setor alimentar. Além de sua grande contribuição em produtos fermentados, outras características como sua atividade antagônica no desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, como bactérias e fungos são também amplamente conhecidas (HATOUM *et al.*, 2012).

O primeiro homem a visualizar uma célula de levedura microscopicamente foi Antony Van Leewenhoek, por volta de 1670, cujas contribuições para a microbiologia tiveram grande importância, alavancando, a partir de seus trabalhos, o interesse para estudar a estrutura das leveduras de forma mais profunda (STEWART & RUSSEL, 1998).

Hoje, as leveduras tem grande importância na indústria em vários seguimentos, dentre eles a produção de cerveja. As leveduras dão às cervejas sabor, aromas e textura. É o agente biológico que transforma o mosto cervejeiro em produto final. Para cada tipo de cerveja como as Belgas, Inglesas e outras, são selecionadas determinadas cepas de leveduras. Como a maioria desse material não é produzida no Brasil, o custo de aquisição acaba sendo elevado (CEREDA, 1983; MARTINS, 1991; SILVA, 2005; VENTURINI & CEREDA, 2008; DRAGONE *et al.*, 2010).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Assim como os bolores, as leveduras fazem parte do Reino Fungi, mas se diferenciam por apresentarem forma unicelular. Geralmente, sua reprodução dá por gemulação ou brotamento. As leveduras crescem e se reproduzem mais rápido que os bolores por serem células simples e devido a sua maior relação área/volume, são mais eficientes numa base ponderal, na realização de alterações químicas. Em relação às algas, as leveduras se diferem por não realizarem fotossíntese e igualmente não são protozoários por possuírem parede celular rígida. São diferenciadas facilmente das bactérias em virtude de suas dimensões maiores e de suas características morfológicas (CARVALHO *et al.* 2006).

A espécie *Saccharomyces cerevisiae* é uma levedura ascomicética gemulante típica, suas células são elípticas, medem de 6 a 8  $\mu\text{m}$  de comprimento por 5  $\mu\text{m}$  de largura e reproduzem-se de forma assexuada por brotamento ou gemulação. No processo de brotamento, o núcleo se divide por constricção e uma porção dele penetra no broto juntamente com outras organelas. Cepas desta espécie são usadas em processos fermentativos para produção de bebidas alcoólicas. Em

meio oxigenado, as leveduras convertem os açúcares em dióxido de carbono, gerando as “bolhas de ar” no pão. A *S. cerevisiae* é uma levedura de grande importância econômica para as áreas de panificação, cervejaria e de produção de etanol (CARVALHO *et al.*, 2006).

## 2.1 Cervejas

Segundo Jay (2005), a cerveja é uma bebida basicamente feita através de malte fermentado. A fermentação tem a função de transformar carboidratos em etanol. Os grãos de cevada utilizados têm na sua composição amido, um carboidrato que as leveduras fermentadoras não conseguem hidrolisar. Os grãos de cevada são colocados para germinar e nesse processo o próprio grão produz as enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\beta$ -amilase. A  $\alpha$ -amilase liquefaz o amido e a  $\beta$ -amilase estimula a formação de açúcares. Com relação às leveduras, existem várias cepas diferentes para fabricação de cervejas, e cada uma produz um perfil diferente de sabor. Algumas cepas Belgas produzem aromas frutados, que cheiram como bananas e cerejas, algumas cepas alemãs produzem fenóis com aroma destacado de cravo. Estes dois exemplos são bastante especiais, já que a maioria das leveduras não são tão dominantes. Mas isto ilustra como a escolha da levedura pode determinar o sabor da cerveja. Na realidade, uma das principais diferenças entre os diversos estilos de cerveja é o tipo de levedura que se usou (SILVA, 2005; DRAGONE *et al.*, 2010).

A maioria dos grandes fabricantes tem sua própria cepa de levedura. Estas leveduras foram evoluindo junto com o estilo de cerveja que se fabrica, especialmente se o fabricante tiver sido o criador de um estilo (VENTURINI & CEREDA, 2008; DRAGONE *et al.*, 2010). Na verdade, a levedura se adapta e evolui a condições específicas de fabricação, assim dois fabricantes produzindo o mesmo estilo de cerveja com a mesma variedade de levedura, terão diferentes cultivos de levedura, e produzirão cervejas diferentes e únicas. Várias empresas de levedura reuniram diferentes leveduras de distintas partes do mundo e as vendem aos fabricantes de cerveja. Algumas empresas de suprimentos para fabricantes de cerveja artesanal têm feito o mesmo, e oferecem suas próprias marcas de diferentes leveduras (SILVA, 2005; DRAGONE *et al.*, 2010).

As cervejas são classificadas pelo teor de álcool e extrato, pelo malte ou de acordo com o tipo de fermentação. As cervejas de alta fermentação são aquelas cujas leveduras (cepas Ale) são ativas em temperatura de 20°C a 25°C e flutuam após fermentar o mosto, gerando um produto de cor cobre avermelhada, de sabor forte, ligeiramente ácido e com teor alcoólico entre 4% e 8% (as alemãs, por exemplo). A maior parte das cervejas é de baixa fermentação, ou seja, quando expostas a temperaturas entre 9°C e 14°C, o levedo (cepas Lager) fica depositado no fundo do tanque (SINDICERV, 2011).

Todas as leveduras cervejeiras, tradicionalmente usadas na produção de cervejas ale e lager, são cepas de *S. cerevisiae* que representam um grupo diversificado de microrganismos. Para efeito histórico e prático, as leveduras lager, são referidas na literatura como *S. carlsbergensis*,

entretanto, mais especificamente são híbridos de *S. cerevisiae* com outras leveduras (WALKER, 2000; CASAREGOLA *et al.*, 2001). Ainda que a literatura científica progressivamente se refira às leveduras como *S. cerevisiae* tipo ale e *S. cerevisiae* tipo lager, existem diferenças bioquímicas entre estes tipos de cepas, que justificam manter uma diferenciação entre elas. As cepas tipo lager possuem os genes MEL que produzem a enzima extracelular  $\alpha$ -galactosidase (melibiose), permitindo a utilização do dissacarídeo melibiose (glicose-galactose). Porém, as cepas tipo ale carecem desses genes MEL, impossibilitando o uso da melibiose. Além disso, cepas ale podem crescer a temperaturas mais altas (37°C), enquanto que as cepas lager não apresentam crescimento em temperaturas superiores a 34°C (STEWART & RUSSELL, 1998).

As leveduras de alta fermentação resultam uma cerveja tipo Ale de pH aproximadamente 3,8, enquanto leveduras de baixa fermentação proporcionam uma cerveja tipo Lager com pH entre 4,1 e 4,2 (JAY, 2005). Os tipos mais conhecidos de Lager são as Pilsener, Munchener, Vienna, Dortmund, Einbeck, Bock, Export e Munich - a maioria delas um tributo às cidades de onde vieram as fórmulas (SINDICERV, 2011).

A prática da cervejaria parece ter se originado na região da Mesopotâmia, onde, assim como no Egito, a cevada cresce em estado selvagem. Há evidências que a cerveja feita de cevada maltada já era fabricada na Mesopotâmia em 6.000 A.C. (CEREDA, 1983).

O lúpulo, assim como outras ervas aromáticas, começaram a ser adicionados na cerveja a fim de corrigir diferenças observadas no sabor (CEREDA, 1983). Tradicionalmente as matérias primas da fabricação de cerveja são água, malte, lúpulo (*Humulus lupulus*) e levedura embora em muitos processos utilizam-se também adjuntos (LEWIS & YOUNG, 2002).

A antiga lei de pureza da cerveja (Reinheitsgetbot) publicada em 1516, na Bavária, região da Alemanha; estabelece que essa bebida deve ser produzida sem qualquer adjunto, exclusivamente com malte, lúpulo e água. A levedura cervejeira não deve ser considerada como matéria-prima, é utilizada apenas como agente bioquímico na transformação dos açúcares em álcool pelo processo de fermentação (VENTURINI & CEREDA, 2008). Estima-se que existam atualmente mais de 20 mil tipos de cervejas no mundo. Pequenas mudanças no processo de fabricação, como diferentes tempos e temperaturas de cozimento, fermentação e maturação, e o uso de outros ingredientes, além de água, lúpulo, cevada e malte, são responsáveis por uma variedade muito grande de tipos de cerveja (SINDICERV, 2011).

A água é importante dentro do processo e requer condições para seu uso. Na produção de 100 litros de cerveja são necessários entre 800 a 1000 litros de água. A cerveja é constituída de 92 a 95% de água em peso, por isso as indústrias cervejeiras localizam-se em local onde tenha facilidade de acesso à água, e que essa água tenha uma boa qualidade (MARTINS, 1991; SILVA, 2005). Toda água encontrada na natureza contém sais dissolvidos em quantidade e qualidade diferenciados. Se a quantidade de sais for alta, essa água pode ter sabor característico e maior dureza (SILVA, 2005). Segundo Cereda (1983), a dureza pode ser permanente ou temporária, águas com altos teores de bicarbonato são denominadas águas de dureza temporária devido à precipitação do bicarbonato durante a fervura; e as de dureza permanente são dadas pela

presença de sulfato ou cloreto de cálcio e magnésio. Venturini e Cereda (2008) descrevem que a água com dureza permanente está associada a cervejas mais amargas do tipo Burton-on-Trent. Águas com dureza temporária são indicadas a cervejas escuras e adocicadas tipo Dublin, München e London. A cerveja Pilsen necessita de água com baixa concentração de sais.

Além dos sais a água pode ter compostos orgânicos e gases dissolvidos que podem atribuir sabor e odor. Os sais dissolvidos e compostos orgânicos podem interferir nos processos enzimático e químico da fermentação (SILVA, 2005). O pH também é considerado muito importante, se for alcalino poderá dissolver grandes quantidades de matérias indesejáveis das cascas e do malte. A reação ácida é necessária para obter a máxima atividade enzimática (CEREDA, 1983). Uma água de boa qualidade deve ser incolor, inodora, com pH entre 6,5-7,0 e livre de qualquer sabor estranho. Segundo Silva (2005) a água deve apresentar alcalinidade de 50mg.L<sup>-1</sup> ou menor (preferencialmente inferior a 25mg.L<sup>-1</sup>) e concentração de cálcio próxima a 50 mg.L<sup>-1</sup>.

O malte é a matéria prima que passou pelo processo de germinação, sob condições controladas, podendo ser usados os seguintes cereais (cevada, milho, trigo, aveia, dentre outros). Qualquer cereal pode ser malteado, considerando o seu poder diastásico e valor econômico. A cevada era usada para fabricação de cerveja desde 6000 anos antes de Cristo, a transformação do grão de cevada em malte é ocasionado pela germinação em temperatura e umidade controladas, interrompendo a germinação antes do grão se tornar uma nova planta. Nessa etapa o amido do grão apresenta-se em cadeias menores que na cevada, tornando-se menos duro, mais solúvel e possuindo enzimas fundamentais ao processo cervejeiro (SILVA, 2005). Através da Tabela 1, é possível verificar as mudanças ocorridas no grão de cevada após ser malteado, especialmente aumento do teor de açúcares fermentescíveis, de nitrogênio solúvel e de atividade de enzimas relacionadas à hidrólise de polissacarídeos (TSCHOPE, 2001).

**Tabela 1:** Comparação do grão de cevada com o grão de malte

Características	Cevada	Malte
Massa do grão (mg)	32 a 36	29 a 33
Umidade (%)	10 a 14	4 a 6
Amido (%)	55 a 60	50 a 55
Açúcares (%)	0,5 a 1,0	8 a 10
Nitrogênio total (%)	1,8 a 2,3	1,8 a 2,3
Nitrogênio solúvel (% do N total)	10 a 12	35 a 50
Poder diastásico, % L*	50 a 60	100 a 250

---

Alfa-amilase 20 unidades**	Traços	30 a 60
Atividade proteolítica	Traços	15 a 30

---

\* Lintner; \*\* em unidades de dextrinas produzidas; Fonte: Tschope (2001).

O Lúpulo (*Humulus lupulus*), erva aromática usada na fabricação de cervejas, é uma planta de difícil cultivo, típica de regiões frias e dióica, ou seja, possui flores femininas e masculinas na mesma planta. A lupulina, substância realmente usada na produção da cerveja, é encontrada na parte feminina da flor, comercialmente pode ser encontrada *in natura*, *pellets* ou extratos. Os lúpulos comerciais são classificados como aromáticos ou de amargor (SILVA, 2005).

Adjuntos podem ser considerados qualquer produto ou material que forneça carboidratos para o mosto cervejeiro desde que seja permitido por lei. Podem ser cereais ou outros vegetais ricos em carboidratos como milho, arroz, cevada, trigo e sorgo. Açúcar cristal, xarope ou melado de cana-de-açúcar também podem ser utilizados apresentando menor importância. Centeio, aveia, batata e mandioca são adjuntos de uso potencial. A vantagem do uso de adjuntos é principalmente por razões econômicas, pois promovem redução de custos e melhoria na qualidade físico-química e sensorial da cerveja acabada. As cervejas que utilizam adjuntos em sua composição são mais leves e refrescantes, normalmente apresentam cor mais clara e maior brilho (VENTURINI & CEREDA, 2008).

O processo de produção de cerveja pode ser dividido basicamente em seis etapas: moagem do malte; mosturação ou brassagem; filtração do mosto; fervura do mosto; fermentação e maturação.

A moagem do malte é uma etapa muito importante, ela vai determinar a velocidade da transformação físico-química, tempo de filtração do mosto, ação das enzimas no amido e qualidade do produto final. Segundo Martins (1991), na moagem, o grão do malte não deve ficar em forma de farinha (muito fino) para evitar entupimento na filtração, nem muito grosso porque para não dificultar a hidrólise do amido. Na definição de Venturini Filho e Cereda (2008), um malte bem moído deve ter ausência de grãos inteiros, a maioria das cascas rasgadas longitudinalmente, o endosperma quebrado em partículas menores de tamanho uniforme e quantidade mínima de farinha (Figura 1).



Figura 1: Grão de Malte (A) e malte moído (B)

Fonte: Os autores.

Após a moagem do malte é feita a mistura com água em temperatura controlada, com o intuito de promover a gomificação e facilitar a hidrólise do amido em açúcares fermentescíveis. Cerca de 10 a 15% dos extratos do malte são solúveis diretamente em água. O restante, 85 a 90%, é formado por produtos de degradação de macromoléculas pelas enzimas do malte. As amilases convertem o amido em açúcares fermentescíveis (maltose principalmente) e dextrina não fermentável; as proteases degradam as proteínas formando aminoácidos e peptídeos; e as fosfatases liberam íons de fósforo orgânico para o mosto (VENTURINI FILHO & CEREDA, 2008). Segundo Martins (1991) e Cereda (1983), as reações enzimáticas podem ser aceleradas em função do pH e da temperatura de ação de cada enzima (Tabela 2) (TSCHOPE, 2001). Dependendo do estilo de cerveja que se deseja produzir, será necessário controlar o pH do mosto e ajustar programas de tempo e temperaturas do processo de mosturação, além de definir os ingredientes em qualidade e quantidade.

**Tabela 2:** Temperatura e pH de atuação das enzimas

Enzimas	Temperatura ótima (°C)	pH ótimo	Substrato
Hemicelulases	40 a 45	4,5 a 4,7	Hemicelulose
Exopeptidases	40 a 50	5,2 a 8,2	Proteínas
Endopeptidases	50 a 60	5,0	Proteínas
Dextrinase	55 a 60	5,1	Amido
Beta-amilase	60 a 65	5,4 a 5,6	Amido
Alfa-amilases	70 a 75	5,6 a 5,8	Amido

Fonte: Tschope (2001).

A filtração tem como objetivo separar a parte sólida da líquida. Segundo Silva (2005), a casca do malte serve como camada filtrante. Após a separação das partes, a camada filtrante é lavada com certa quantidade de água (denominada água secundária) a 75°C, visando aumentar a extração de açúcares remanescentes na casca.

A fervura do mosto a 100°C destrói a flora microbiana que resistiu ao processo de mosturação, inativa as enzimas e coagula as proteínas que se precipitam em flocos denominados *trub* (CEREDA, 1983; SILVA, 2005). O lúpulo é adicionado nesse momento para estabilizar o mosto e dar sabor de amargor na cerveja. Em muitos casos adiciona-se o lúpulo no início e no final da fervura. Quando se deseja ter uma cerveja mais aromática, adiciona-se lúpulo aromático no final da fervura, pois os óleos essenciais são voláteis e evaporam em altas temperaturas (CEREDA, 1983).

Terminada a fervura, elimina-se o *trub*, por filtração ou decantação, e resfria-se o mosto. A temperatura final vai depender do tipo de mosto: para cerveja Lager, 7 a 15 °C e para Ale, 18 a 22 °C. É injetado oxigênio na linha de saída do trocador de calor visando à concentração de oxigênio dissolvido (SILVA, 2005).

As leveduras são responsáveis pela fermentação do mosto sendo que existem duas espécies que estão ligadas ao processo de fermentação, a *Saccharomyces cerevisiae* e a *Saccharomyces uvarum* (Carlsbergensis) (MARTINS, 1991). Desta forma, há dois tipos de fermentação: a fermentação de alta para cervejas *Ale*, e a fermentação de baixa para cervejas *Lager*. Segundo Silva (2005), as cervejas do tipo *Ale* são produzidas por leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, em temperatura entre 18 e 22 °C, com duração de 3 a 5 dias; as cervejas *Lagers* são produzidas por leveduras *Saccharomyces uvarum*, em temperatura entre 7 e 15 °C com duração de 7 a 10 dias.

De acordo com Venturini Filho e Cereda (2008), a fermentação tem início com a adição do fermento. A quantidade do fermento varia conforme o teor de extrato no mosto, aeração e temperatura de fermentação. Na maioria dos casos são usados 2g de fermento por litro de mosto. O mosto de malte contém como fonte de carbono os seguintes açúcares: glicose, frutose, sacarose, maltotriose, além de dextrinas. A principal fonte de nitrogênio para síntese de proteínas e ácidos nucleicos, entre outros componentes nitrogenados, se dá pela degradação de proteínas por proteases durante a mosturação. O oxigênio injetado no mosto antes da inoculação do fermento será consumido em poucas horas para produzir ácidos carboxílicos insaturados e esteróis, que irão atuar na síntese da membrana celular, para crescimento celular (BERGMAN, 2001; SILVA, 2005). As leveduras cervejeiras catabolizam os açúcares mais simples em dois caminhos metabólicos: via respiratória e via fermentativa. No início, sob condições de aerobiose, elas oxidam as moléculas simples de açúcar e produzem gás carbônico, água e energia. Quando o oxigênio acaba, as leveduras utilizam a via fermentativa, onde, em anaerobiose, fermentam uma molécula simples de açúcar produzindo duas moléculas de etanol, duas de gás carbônico e energia (VETURINI FILHO e CEREDA, 2008).

Terminada a fermentação primária, o resultado é uma cerveja denominada “cerveja verde” e precisa passar por outro processo fermentativo chamado de maturação ou fermentação secundária. A maturação ocorre em temperatura baixa, entre 0 e 3°C e pode levar semanas ou até mesmo meses, dependendo do tipo de cerveja que está sendo feita e se a fermentação foi de alta ou baixa (CEREDA, 1983). Segundo Dragone e Almeida e Silva (2010), a maturação ou fermentação secundária tem como objetivo principal estabilizar o diacetil, composto formado na fermentação primária; iniciar a clarificação da cerveja pela sedimentação de células de leveduras e proteínas; propiciar a carbonatação (quando em baixa temperatura, o gás carbônico é absorvido pela cerveja); melhorar o odor e sabor da cerveja, pela redução de diacetil, acetaldeído e ácido sulfídrico.

## **2.2 Crescimento das Leveduras**

Existem várias formas de avaliar o crescimento quantitativo de culturas de microrganismos, dentre elas, contagem direta em câmara de Neubauer, contagem de colônias em placa de Petri, turbidimetria e densimetria. A câmara de Neubauer é uma lâmina especial, usada em microscópio óptico, onde se sabe o volume em uma determinada área da câmara, com ela pode-se fazer uma contagem do número de microrganismos presentes em uma determinada suspensão. É comum o seu uso para determinar a viabilidade celular em suspensão de leveduras, usando azul de metileno e citrato de sódio como indicadores. As células coradas de azul são consideradas células inviáveis (mortas). A turbidimetria é uma técnica que usa a absorção e dispersão de luz que passa através dos microrganismos. Uma cultura com mais de  $10^7$  células por mL aparece turva, à observação visual. A quantidade de luz absorvida e dispersada é proporcional

---

à massa de células contidas no trajeto luminoso. Para as medidas turbidimétricas da massa celular podem ser utilizados instrumentos sensíveis, como espectrofotômetro ou calorímetro (PELCZAR *et al.*, 1980; 1997). Ainda, a partir de uma suspensão de microrganismos em diluição conhecida, quando inoculada em placa de Petri e encubada em temperatura ideal com meio sólido, obtêm-se todas as colônias viáveis que podem ser contadas manualmente ou por contador eletrônico. Esse método possibilita determinar o número de células viáveis ou unidades formadoras de colônia (UFC) (RAY, 2005).

### 2.3 Análise sensorial

Análise sensorial é um método interdisciplinar usado para medir, analisar e interpretar reações causadas pelas características dos alimentos e bebidas ao entrarem em contato com os órgãos dos sentidos, como a visão, audição, olfato, gustação, e tato (DRAGONE e ALMEIDA e SILVA, 2010; SILVA, 2005). Segundo a Associação Brasileira de Normas técnicas (1993) o sabor pode ser reunido em um único terno de propriedades sensoriais, o aroma pode ser definido pelas propriedades organolépticas perceptíveis pelo órgão olfativo via retro nasal durante a degustação. A análise sensorial é muito empregada para saber se o produto vai ter uma boa aceitação no mercado, mesmo usando outros métodos analíticos, a análise sensorial é a única forma de determinar sabor e odor.

Para analisar as características sensoriais, o julgador deve estar em local bem iluminado, livre de odores estranhos e ruídos. Ele deve omitir-se de conversas paralelas. O julgador deve expressar sua opinião de modo claro usando suas próprias palavras em questionários (Tabela 3). Os testes sensoriais discriminativos ou de diferenciação têm a função de medir atributos específicos. Um dos mais usados é o teste descritivo triangular, onde são colocadas três amostras codificadas para o julgador analisar se há diferença entre essas amostras e descrevê-las, usando como modelo a Tabela 3.

**Tabela 3:** Questionário para análise sensorial

Julgador:	Amostra:
Aparência:	
Odor e aroma:	
Textura:	
Sensação bucal:	

Sabor e gosto:

---

Comentários:

---

Fonte: Instituto Adolfo Lutz (2008)

---

## 2.4 Análises Moleculares

Os métodos de identificação de leveduras através de caracterizações fenotípicas (teste bioquímicos e fisiológicos) tendem a ser laboriosos, morosos e nem sempre são adequados para diferenciar espécies próximas (WALKER, 2000; LOPANDIC *et al.*, 2006). Os métodos de genética molecular tiveram um impacto muito grande na identificação e caracterização de leveduras, comparados com os métodos tradicionais baseados nas características fenotípicas. Dentre as técnicas empregadas, a reação de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) é muito utilizada. O PCR, uma criação de Kary Mullis, da Cetus Corporation, em 1985, é uma metodologia de síntese de DNA *in vitro* que possibilita a cópia e amplificação de um segmento, em particular de DNA, por meio de um ciclador de temperatura, um banho programável (Termociclador), promovendo rápidas mudanças de temperatura que o processo exige (BARKER, 2002). A partir deste tipo de equipamento, podem-se obter resultados que indicarão pequenas diferenças de sequências de DNA dos organismos analisados, originadas de deleções, inserções ou até mesmo de mutações pontuais, permitindo identificar e caracterizar indivíduos com grande confiança (BORNEMAN *et al.*, 2011).

## 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta revisão, buscou-se reunir dados científicos no que diz respeito à produção de cervejas artesanais e, como um dos resultados, percebeu-se que existem poucos trabalhos científicos relacionados ao assunto.

As informações reunidas neste artigo estabelecem apenas o início de um processo de divulgação que deverá prosseguir de forma permanente, com o objetivo de estimular a publicação de experiências obtidas por cervejeiros artesanais.

Por todo o exposto, nota-se que o desenvolvimento tecnológico, com a introdução de matérias-primas de qualidade superior no processo produtivo, torna-se imperativo para a obtenção de produtos de maior aceitabilidade do consumidor, sem o qual não se pode alcançar o almejado crescimento das cervejarias artesanais.

Resta claro pelo recorrido que existe a necessidade de investimentos em pesquisa, desenvolvimento e inovação, principalmente no que se refere a cepas de leveduras melhorada e adequadas às condições brasileiras de produção de cervejas, visando à produção de cervejas artesanais que agradem o paladar do consumidor local. Trata-se de um desafio, mas que pode

gerar ganhos significativos à indústria nacional de cervejas artesanais, principalmente pela redução significativa da dependência de importação de leveduras.

#### 4 REFERÊNCIAS

BARKER, Kathy. **Na Bancada-Manual de iniciação científica em laboratório de pesquisas biomédicas**. Porto Alegre: Artmed, 2002. P. 295-296.

BERGMAN, L.W. Growth and Maintenance of Yeast. In: MACDONALD, P.N. **Methods in Molecular Biology**, v. 177, p.9-14. Doi: 10.1385/1-59259-210-4:009. 2001

BORNEMAN, A.R.; DESANY, B.A.; RICHES, D.; AFFOURTIT, J.P.; FORGAN, A.H.; PRETORIUS, I.S.; EGHOLM, M.; CHAMBERS, P.J. Whole-Genome Comparison Reveals Novel Genetic Elements That Characterize the Genome of Industrial Strains of *Saccharomyces cerevisiae*. **Plos Genetics**, v.7, n.2, p.1-10. 2011.

CARVALHO, G. B. M.; BENTO, C. V.; SILVA, J. B. A. Elementos Fundamentais no Processo Cervejeiro: 1ª parte- As leveduras. **Revista Analítica**. São Paulo, 2006.

CASAREGOLA, S.; NGUYEN, H.V.; LAPATHITIS, G.; KOTYK, A.; GAILLARDIN, C. Analysis of the constitution of the beer yeast genome by PCR, sequencing and subtelomeric sequence hybridization. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, p.1607–1618, 2001.

CEREDA, M. P. Cervejas. In: AQUARONE *et al.* **Biotecnologia alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: Edgar Blücher, 1983. Cap. 3, p. 46.

DRAGONE, G.; ALMEIDA e SILVA, J. B. Cerveja. In VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: Ciência e tecnologia**. Vol. 1 São Paulo: Blucher, 2010. p. 31-33.

HATOUM, R.; LABRIE, S.; FLISS, I. Antimicrobial and probiotic properties of yeasts: from fundamental to novel applications. **Frontiers in Microbiology**. v. 3, a.421, p. 1-12. doi: 10.3389/fmicb.2012.00421. 2012.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). **Métodos físicos – químicos para análise de alimentos**. (coord.) ZENEBO, O *et al*; São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

JAY, J. M. **Microbiologia dos alimentos**. Trad. Eduardo Cesar Tondo *et al.* 6. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap. 8; 10, 1999, p. 169-170.

LEWIS, M.; YOUNG, T. W. **Brewing**. 2. ed. New York: Ed. KA/PP, 2002. cap. 1, p 4.

**bioenergia em revista: diálogos, ano 3, n. 1, p. 45-58, jan./jun. 2013.**

BORTOLI, Daiane A. da S.; SANTOS, Flávio dos; STOCCO, Nádia M.; ORELLI Jr., Alessandro; TOM, Ariel; NEME, Fernanda F.; NASCIMENTO, Daniela Defavari do;

*Leveduras e produção de cervejas - Revisão*

---

LOPANDIC, K., ZELGER, S., BÁNSZKY, L. K., ELISKASES-LECHNER, F., PRILLINGER, H. Identification of yeasts associated with milk products using traditional and molecular techniques. **Food Microbiology**, n. 23, p. 341-350, 2006.

MARTINS, S. M. **Como fabricar cerveja**. 2. ed. São Paulo: Ícone, 1991.

PELCZAR, M. J. Jr.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, Noel R. **Microbiologia; conceitos e aplicações**. Vol. 2, 2. ed. São Paulo: Pearson Makron Books, 1997. Cap. 3.

PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E. C. S. **Microbiologia**. Vol. 1. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1980. Cap. 7, p. 141-142.

RAY, B. **Fundamental food microbiology**. Third Edition. CRC Press, Boca Raton, USA, 2005.

SILVA, J. B. A. Cerveja. In: **VENTURINI, W. G. Filho. Tecnologia de bebidas**. São Paulo: Edgar Blücher, 2005. Cap. 15 p. 353.

SINDICERV, site. Disponível em > <http://www.sindicerv.com.br/tipo-cerveja.php>. Acessado em 23/03/11.

STEWART, G. G.; RUSSEL, I. **An introduction to brewing Science & Technology**: series III: brewer's yeast. London: The Institute of brewing, 108p. 1998.

TSCHOPE, EGON CARLOS. **Micro cervejarias e Cervejarias: A História, a Arte e a Tecnologia**. 1. ed. São Paulo: Aden, 2001. 223p.

VENTURINI, W. G. F.; CEREDA, M. P. W. Cerveja. In: **Biotechnology Industrial-Biotechnology na produção de alimentos**. V. 4, São Paulo: Edgard Blucher, 2008. Cap. 4, p. 91-144.

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

1 Daiane A. da S. BORTOLI é Tecnóloga em Biocombustíveis pela FATEC Piracicaba.

2 Flávio dos SANTOS é Tecnólogo em Biocombustíveis pela FATEC Piracicaba.

3 Nádia M. STOCCO Possui graduação em Tecnologia em Biocombustíveis - Fatec Piracicaba (2012). Tem experiência nos laboratórios de Biotecnologia, Microbiologia e Química.

4 Alessandro A. ORELLI Jr. possui graduação em Engenharia Agrônoma pela Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-USP (1985). Atualmente é professor de graduação da FATEC-Piracicaba, da FATEP e professor do MBA do Instituto de Aperfeiçoamento Tecnológico - IAT. , atuando principalmente nos seguintes segmentos: cervejaria, cana-de-açúcar, etanol, fermentação, destilação, usinas e destilarias.

5 Ariel TON possui graduação em Tecnologia em Biocombustíveis pela Faculdade de Tecnologia de Piracicaba (FATEC) (2011) , curso-tecnico-profissionalizante pela Escola SENAI "MÁRIO DEDINI" - Piracicaba (2006) e curso-tecnico-profissionalizante pela ETEC Cel. "FERNANDO FEBELIANO DA COSTA" – Piracicaba (2004).

6 Fernanda F. NEME é graduada pela Faculdade de Tecnologia de Piracicaba - FATEC, no curso de Biocombustíveis. Tem conhecimento na área de Microbiologia, com ênfase em biologia molecular, produção de bebidas fermentadas e destiladas. Experiente em análises físico-químicas em açúcar, álcool e biodiesel, calibração em Infra Vermelho Próximo (NIR) para elaboração de equações, análises de componentes inorgânicos por espectrometria de absorção atômica e preparação de amostras de açúcar, álcool e caldo de cana para ensaios de proficiência.

7 Daniela Defavari do NASCIMENTO possui graduação em Engenharia Agrônoma pela Universidade de São Paulo (1997), graduação em Licenciatura Em Ciências Agrárias pela ESALQ/USP (1998), mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas pela ESALQ/USP (2000) e doutorado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) pela ESALQ/USP (2005). Especialista (MBA) em Agronegócios pelo PECEGE/ESALQ/USP (2012). Tem experiência na área de Agronomia, com ênfase em Bioquímica e Biologia Molecular, atuando principalmente nos seguintes temas: cultura de tecidos, micropropagação de plantas, clonagem gênica, transformação genética de plantas (Tabaco, Arabidopsis, Eucalipto e cana-de-açúcar), análises moleculares, DNA e RNA. Desde 2010 é professora nas disciplinas: Biotecnologia do curso de Graduação em Biocombustíveis, Biologia Celular e Bioquímica Aplicada à Agroindústria do curso de Graduação em Agroindústrias todos da FATEC Piracicaba.