



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**  
**CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**CONTROLE MICROBIOLÓGICO NA PRODUÇÃO INDUSTRIAL DE CERVEJAS**

**YURI JOSÉ DA SILVA SANTOS**

**RECIFE**

**2022**

YURI JOSÉ DA SILVA SANTOS

## **CONTROLE MICROBIOLÓGICO NA PRODUÇÃO INDUSTRIAL DE CERVEJAS**

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas/UFRPE como requisito parcial para obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. José Vitor Moreira Lima Filho

RECIFE

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

S237c

Santos, Yuri José Da Silva

Controle Microbiológico na Produção Industrial de Cervejas / Yuri José Da Silva Santos. - 2022.  
52 f. : il.

Orientador: Dr. Jose Vitor Moreira Lima Filho.  
Inclui referências.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco,  
Licenciatura em Ciências Biológicas, Recife, 2022.

1. controle microbiológico. 2. indústria. 3. monitoramento. I. Filho, Dr. Jose Vitor Moreira Lima, orient. II.  
Título

CDD 574

---

YURI JOSÉ DA SILVA SANTOS

**CONTROLE MICROBIOLÓGICO NA PRODUÇÃO INDUSTRIAL DE  
CERVEJAS**

Comissão Avaliadora:

---

Profº Drº José Vitor Moreira Lima Filho – UFRPE  
Orientador

---

Esp Chiara Angélica do Rego Barros da Silva – INSTITUTO CERES  
Titular

---

Drº João Menezes Guimarães – CERVEJARIA DEBRON  
Titular

---

Profº Drº Éder Galinari – UFRPE  
Suplente

RECIFE  
2022

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	12
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	15
<b>2.1 Vossa excelência, a cerveja: matérias-primas</b> .....	15
2.1.1 Água .....	15
2.1.2 Malte e Adjuntos .....	17
2.1.3 Lúpulo .....	19
2.1.4 Levedura.....	21
<b>2.2 Etapas do Processo de Produção de Cervejas</b> .....	23
2.2.1 Brassagem.....	23
2.2.2 Fervura .....	25
2.2.3 Fermentação .....	27
2.2.4 Envase ou engarrafamento .....	30
<b>2.3 Principais contaminantes microbianos</b> .....	31
2.3.1 Deterioração Bacteriana.....	32
2.3.2 Bactérias Gram Positivas .....	32
<i>Lactobacillus</i> .....	32
<i>Pediococcus</i> .....	33
2.3.3 Bactérias Gram Negativas.....	33
<i>Pectinatus</i> .....	33
<i>Megasphaera</i> .....	34
<i>Selenomonas</i> .....	34
<i>Zymophilus</i> .....	34
Bactérias do ácido acético.....	35
Enterobactérias .....	35
<i>Obesumbacterium spp</i> e <i>Citrobacter freundii</i> .....	35
<i>Klebsiella terrigena</i> e <i>Klebsiella oxytoca</i> .....	36
<i>Rahnella aquatilis</i> .....	36
2.3.4 Levedura Selvagem.....	36
Leveduras Não- <i>Saccharomyces</i> .....	36
Leveduras <i>Saccharomyces</i> .....	37
<b>2.4 Legislação Brasileira sobre contaminantes na cerveja</b> .....	37
<b>2.5 Prevenção e controle de contaminações microbianas nas matérias-primas</b> .....	38
<b>2.6 Aplicabilidade do controle microbiológico numa indústria cervejeira no estado de Pernambuco</b> .....	41

<b>3. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>44</b>
<b>4. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>45</b>

## RESUMO

Esta monografia teve por objetivo realizar uma revisão sobre o controle microbiológico na produção industrial de cervejas ao mesmo tempo em que reitera a relevância da extensão deste procedimento às demais indústrias do gênero alimentício. Como metodologia, foi realizada uma revisão literária e uma visita técnica com foco na avaliação dos procedimentos de prevenção de contaminações microbianas em uma indústria cervejeira localizada na região metropolitana do Recife, no Estado de Pernambuco. São descritos os procedimentos adotados pela empresa para o constante controle analítico dessas contaminações, monitoramento este realizado mediante a demanda produtiva. Deste modo, concluímos que a empresa cervejeira, considerando os requisitos legais aplicados pelos órgãos públicos, adota procedimentos de monitoração de contaminações com suas políticas internas, visando a produção de produtos de qualidade, fazendo com que estes atinjam aos padrões legais, evitando-se problemáticas a saúde do consumidor final.

Palavras-chave: controle microbiológico, indústria, monitoramento.

## 1. INTRODUÇÃO

Tratando-se da bebida mais popular do mundo, a cerveja é definida como: “bebida resultante da fermentação, a partir da levedura cervejeira, do mosto de cevada malteada ou de extrato de malte, submetido previamente a um processo de cocção adicionado de lúpulo ou extrato de lúpulo” (MAPA, 2019). Seus primórdios históricos, são tão antigos quanto os registros das primeiras civilizações, na região da Mesopotâmia, entre os rios Tigre e Eufrates (OLIVER, 2012).

Na Idade Antiga, na sociedade egípcia, era utilizada como pagamento aos escravos, pelos trabalhos realizados, sendo acessível a grande parte da sociedade (OLIVER, 2012). Já na Babilônia, no registro de leis mais antigo existente, no chamado Código de Hamurabi, era determinada a pena de morte para àqueles que diluíssem a bebida e a comercializassem (SINDCERV, [s.d.]).

Mais tarde, na Idade Média as civilizações europeias desenvolveram técnicas de produção cervejeira, utilizando-se, para isso, da seleção permanente das matérias primas e do aprimoramento dos procedimentos de fabricação. Particularmente, na Alemanha, essas técnicas, deram à luz a lei de *Reinheitsgebot*, ou Lei da Pureza, proclamada em abril de 1516, segundo a qual para a produção da cerveja seriam permitidos apenas: água, malte e lúpulo (sendo o fermento introduzido na lei, alguns anos mais tarde) (DERTINARTE, 2007).

Ao longo dos anos, o processo produtivo veio sendo cada vez mais aprimorado e conquistando novos consumidores. Nos últimos anos, a fabricação de cervejas artesanais teve uma grande eclosão no mercado. Atualmente, a cerveja é a terceira bebida mais consumida no mundo, ficando atrás apenas da água e do café, sendo também a bebida alcoólica mais consumida (NELSON, 2005).

Para que se tenha um produto de boa qualidade, todas as etapas do processo, devem passar por um crítico controle analítico, devendo abranger desde o recebimento das matérias-primas até o produto final. Um desses controles, diz respeito as análises microbiológicas. Sabe-se que todo e qualquer



produto destinado ao consumo humano, requer uma criticidade maior que qualquer outra escala produtiva.

Existem duas principais famílias de cerveja, que se diferem mediante a forma de fermentação, as do Tipo Ale e do Tipo Lager, são as chamadas cervejas de alta e baixa fermentação, respectivamente (PICCINI et al, 2002). As de alta fermentação, assim denominadas pelo fato do fermento utilizado formar um sobrenadante sobre o mosto, trabalhando em temperaturas mais altas, enquanto que, nas cervejas de baixa fermentação, o fermento deposita-se no fundo dos tanques, em temperaturas mais baixas (BJCP, 2017).

Além disso, o estilo e as características da cerveja produzida, modificam de acordo com o seu modo de fabricação (PICCINI et al, 2002). A variação dos ingredientes, as escalas de temperatura de submissão, as distintas fases do manejo, e afins, refletem claramente no produto. Dessa forma, a cepa da levedura utilizada para cada estilo tem impacto direto. Quando num determinado produto, se têm fuga as suas características básicas, fica claro a presença de algum contaminante.

Por exemplo, em cervejas estilo Pilsen, a cepa da levedura comumente utilizada é a *Saccharomyces cerevisiae* (DITTMER E DESMOND, 2005). Logo, todo e quaisquer microrganismo, como o *Saccharomyces pastorianus*, que leve à fuga das características desta espécie é considerado um contaminante, e, seus efeitos à cerveja podem ser diversos. Sendo os atributos pertinentes a aspecto e sabor, geralmente os mais afetados.

Tendo como objetivo não somente o controle, mais também a prevenção de contaminação microbiana, as empresas possuem diferentes metodologias a solucionar esta problemática. Além do controle por meio de análises laboratoriais, a realização de CIP, sigla em inglês para Limpeza no Local, são as mais comuns.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Vossa excelência, a cerveja: matérias-primas

#### 2.1.1 Água

A água constitui cerca de 90% da cerveja, sendo o restante formado pela adição do malte, lúpulo e da levedura (BJCP, 2017). Ao processo cervejeiro, ela é dividida em dois segmentos, ou seja, atribuída a duas finalidades. A água do processo é aquela utilizada para limpeza de máquinas e equipamentos, assim como, também é aquela utilizada para resfriamento do mosto. Já a água cervejeira, é aquela utilizada para a fabricação da bebida em si.

As propriedades da água podem influenciar em características da cerveja pertinentes a cor, estabilidade sensorial, espuma, sabor, e no que se denomina de *drinkability*, definido como a facilidade de beber cerveja, que se atrela a leveza e refrescância da bebida, por exemplo. Uma bebida mais alcoólica, pode não ter *drinkability*, porém pode ser mais agradável. Além dos cuidados com as propriedades físico-químicas da água, compostas inicialmente, pela portaria MS 2914/2011, que fora revogada, e que estabeleceu-se atualmente, a portaria nº 888/2021 pelo Ministério da Saúde, a água apresenta pequenos níveis de contaminação natural, sejam elas por minerais ou por microrganismos. Isso desenvolve a necessidade da sua esterilização através da adição de cloro (PALMER E KAMINSKI, 2013). Contudo, este, posteriormente é removido, através de filtros, para que não haja a formação de clorofenóis e de cloraminas (WOTRING, 1998).

Um dos parâmetros mais importantes de se avaliar na água utilizada, é o teor de pH. Este mede os níveis de cátions ( $H^+$ ) e ânions ( $OH^-$ ) presentes na água. Dependendo dos níveis, a presença desses íons, resultam em sua acidez, na neutralidade ou em sua alcalinidade. Para cada etapa do processo, existe uma faixa de pH ideal de trabalho, isso potencializa e otimiza toda a cadeia produtiva (AGRÁRIA MALTE, [s.d.]).

Na mosturação, o pH indicado oscila entre 5,4 e 5,6, ideal para atividade das enzimas alfa- e beta-amilases, que produzem a conversão do amido presente no malte de cevada em açúcares fermentescíveis (PALMER E KAMINSKI, 2013). Caso o pH esteja elevado, taninos e polifenóis indesejáveis

podem ser adquiridos a partir da casca dos grãos, causando adstringência na cerveja (BJCP, 2017). Um ajuste químico da água pode ser realizado para alterar o pH e adicionar minerais importantes na fabricação da cerveja, sendo o sulfato de cálcio, cloreto de cálcio, sulfato de magnésio ou o ácido lático diluído em solução utilizados na indústria para diminuir o pH, enquanto que a hidróxido de cálcio, carbonato de sódio ou carbonato de cálcio são usados para aumentar o pH (PALMER E KAMINSKI, 2013).

Outro fator importante na água destinada a fabricação de cerveja é a concentração de alguns sais dissolvidos na água. Essa variação, dependendo do sal, pode vir a colaborar ou prejudicar o processo. Os mais importantes são: o Cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), Magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), Sódio ( $\text{Na}^{2+}$ ), Cloretos ( $\text{Cl}^-$ ), Sulfatos ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), Zinco (Zn) e Bicarbonatos ( $\text{H}_3\text{CO}^-$ ).

O cálcio auxilia na clarificação, melhora a estabilidade coloidal da cerveja e diminui a extração de taninos. Apesar de não alterar o sabor, quando em excesso poderá influenciar na redução dos níveis de fosfato, que são essenciais a fermentação (PALMER E KAMINSKI, 2013; AGRÁRIA MALTE, [s.d.]). O magnésio, serve de nutriente para levedura. Contudo, em excesso, ele desenvolve amargor desagradável (WOTRING, 1998). O sódio, contribui para percepção de corpo e doçura à cerveja. Em excesso, torna-se desagradável, podendo desenvolver características salgadas, pois sua presença está atrelada a presença de sulfatos. Havendo mais sulfatos, o teor de sódio deve ser reduzido, e havendo-se menor quantidade de sulfatos, maior a necessidade de sódio (PALMER E KAMINSKI, 2013; WOTRING, 1998).

Cloretos, acentuam características de corpo e dulçor a cerveja. Seus níveis ideais permeiam entre 10 e 150 ppm (PALMER E KAMINSKI, 2013; WOTRING, 1998). Os sulfatos, auxiliam para um paladar mais seco, ressaltando o amargor. São essenciais na formação do “trub”, que são resíduos de partículas geradas ao longo do processo de produção que precipitam no fundo da panela após a fervura (trub quente) ou no fermentador (trub frio) (PALMER E KAMINSKI, 2013; WOTRING, 1998). O zinco é essencial, pois colabora no processo fermentativo, sendo um co-fator enzimático. O zinco é adicionado geralmente no final da fervura, sob a forma de sulfato de zinco. Em excesso, pode causar o efeito oposto interrompendo a fermentação (PALMER E KAMINSKI, 2013; WOTRING, 1998). Já os bicarbonatos podem dificultar atingir o pH ideal da brasagem,

influenciando na ação das alfa-amilases. Além disso, podem aumentar a percepção de amargor de maneira desagradável, sendo mais indicado sua presença na fabricação de cervejas escuras pouco lupuladas (PALMER E KAMINSKI, 2013; WOTRING, 1998).

### 2.1.2 Malte e Adjuntos

O grão de cevada, é uma semente da família das gramíneas, *Gramineae*. O malte de cevada, é resultado da germinação dos grãos de cevada até um dado comprimento, seguido pela remoção das radículas e pela secagem e torrefação dos grãos até que se obtenha uma coloração específica (BJCP, 2017).

O cultivo da cevada é datado entre 6000 a.C. e 7000 a.C., na região correspondente hoje ao Oriente Médio. Anos mais tarde, resquícios arqueológicos do neolítico, apontaram os primeiros traços de domesticação de seu cultivo, em regiões que correspondem hoje a Síria. No Egito, foi utilizada tanto na produção do pão, quanto na produção de cerveja. Na Europa medieval, era símbolo de humildade, já que os pães fabricados com cevada, eram destinados aos mais pobres, enquanto aqueles fabricados com trigo, eram consumidos pela nobreza (ANTONIAZZI, 2020).

Sua área de cultivo no mundo, abrange uma área de aproximadamente 530.000 km<sup>2</sup>, sendo 9 países constituintes do hemisfério Norte e 1 do hemisfério Sul, mediante os últimos dados fornecidos pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, em 2017. Seu período germinativo varia de 1 a 3 dias. Na extremidade do colmo, estão suas flores, organizadas em espigas, dispostas em duas fileiras, *Hordeum distycum*, ou em seis fileiras, *Hordeum hexastycum*, e os aquênios, amarelados e ovoides (KOMATSUDA et al, 2007).

Na cerveja, a cevada contribui para: a definição do corpo, conferência de cor e sabor e como fonte não somente de açúcares, mais também de proteínas, enzimas e nutrientes (MALLETT, 2014). Atualmente, existem indústrias especializadas no processo de malteação, o que antes era realizado na própria indústria cervejeira. O processo dum maltaria é dividido em maceração, germinação, secagem e torrefação. Uma vez ocorra a colheita do grão, este é macerado. Esta etapa consiste na submersão dos grãos em água, aumentando-se a umidade interna destes, estimulando-se o desenvolvimento embrionário,

através do crescimento de radícula e folículo. Isto se dá, alternando-se entre períodos secos e úmidos, com aeração intermitente nos períodos de umidificação. Na maceração, a umidade do grão vai de 12 para 40% (CERVEJEIRO RAIZ ©, [s.d.]).

Na germinação, a giberelina, hormônio produzido pelo embrião, estimula a produção de enzimas (MALLETT, 2014). Aqui o amido, passa a ser quebrado em glicose, servindo como fonte de energia ao embrião. Ocorrendo além da formação de folhas e raízes, se dá a degradação de gomas e proteínas.

Na secagem e torrefação, há a redução da umidade de 40 para 5%, ocorrendo também a remoção das radículas (BJCP, 2017). Nesta etapa, também ocorrem as fabricações dos diferentes tipos de malte. Quanto mais escuro o malte, maior a temperatura e/ou seu tempo de torra, quanto mais claro, menor o tempo e a temperatura. Maltes mais claros, terão poder enzimático (ou diastático) maior, gerando mais açúcares na brassagem. Enquanto os maltes mais escuros, terão menor poder diastático, gerando menos açúcares.

Os maltes bases, são tidos como aqueles mais claros, ou levemente torrados, gerando um 90% do mosto, com açúcares fermentescíveis (HUGHES, 2014). São alguns exemplos: Pilsen de 2 fileiras (básico à todas as cervejas), Pilsen de 6 fileiras (com maior poder diastático, indicado para cervejas com muitos adjuntos), Vienna (indicado para cervejas estilo Vienna, contudo também pode ser usado em cerveja âmbar), Malte de centeio (utilizado na atribuição de notas picantes à cerveja), e Pale Ale (indicados para cervejas Pale Ale ou India Pale Ale) (HUGHES, 2014).

Os maltes especiais, com poucos açúcares fermentescíveis, são utilizados em pequenas quantidades na brassagem, para atribuição de característica de sabor, cor e aroma. São alguns exemplos: Malte de caramelo (alta disponibilidade de tipos, conferem sabor de mel, caramelo e toffe), Malte âmbar (dão coloração âmbar-escura em cervejas Porters e Ales e flavors de biscoito), Maltes torrados (mais escuros, com pouco ou sem nenhum teor de açúcar, atribuem sabores, cores e aromas complexos), Acidificado (utilizado para baixar o pH da mostura, ou em cervejas mais ácidas) e Defumado (confere sabor e aroma defumado à cerveja) (OLIVER, 2012).

Adjunto cervejeiro é o ingrediente utilizado na fabricação de cerveja que fuja dos quatro componentes básicos: água, malte, lúpulo e levedura. Eles

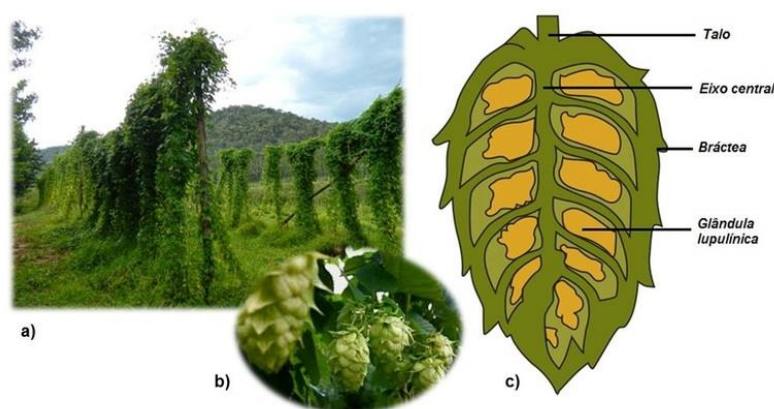
podem se apresentar sólidos, em grãos não maltados, tais como: trigo, milho, arroz, entre outros, ou em estado líquido, como xaropes de malte ou xaropes caramelizados. Sua função está atribuída a complementação da fonte de açúcares na brassagem, reduzindo os custos produtivos. No Brasil, o adjunto mais utilizado na indústria cervejeira é o *High Maltose*, obtido a partir do milho (CON CERVEJA ©, 2022). Outros ingredientes, com distintas finalidades, a depender da cerveja fabricada, podem ser utilizados, tais como pimenta, favas de baunilha e coentro.

### 2.1.3 Lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulus*) é uma angiosperma, pertencente à família Cannabaceae, nativa do Hemisfério Norte. É uma planta, dioica, perene, herbácea, que cresce em brotos na primavera, e definha em rizomas endurecidos no inverno, sendo uma trepadeira, seu desenvolvimento varia entre 4 e 6 metros de altura (JARDIM BOTÂNICO DO MISSOURI ©, [s.d.]).

Para indústria cervejeira, os ingredientes essenciais estão presentes na flor feminina da videira (BJCP, 2017). Elas contêm a lupulina, localizada na base das bractéolas (FIGURA 1). Estas estão presas a à haste central do cone do lúpulo. As resinas da lupulina, possuem alfa ácidos, polifenóis e óleos essenciais que contribuem com o amargor, sabor e aroma característicos associados ao lúpulo na cerveja (BJCP, 2017).

Figura 1: Lúpulo: a) Planta; b) Flor; c) Anatomia da flor



Fonte: NUTRIAGRO ©

Atualmente, os maiores produtores de lúpulo mundial, se dão no Hemisfério Norte, em países como, Estados Unidos, Alemanha, Polônia e Rússia, e em alguns do Hemisfério Sul, como Austrália e Nova Zelândia (FAO, 2014). No Brasil, nos últimos anos, o mercado produtor de lúpulo vem ganhando destaque. No mercado, o lúpulo está disposto em diferentes formas: pellets, extratos, plugs ou até mesmo inteiros. Com o desenvolvimento das cervejarias artesanais, houve a necessidade de melhorias que atendessem ao mercado interno, e as regiões do Sul e Sudeste do país são pioneiras na produção. Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, no ano de 2014, a produção mundial foi de 100.360 toneladas (FAO, 2014).

As variedades do lúpulo são conhecidas para duas finalidades nas cervejarias: lúpulos de amargor e lúpulos de aroma, mas, alguns são capazes de desempenhar os dois papéis simultaneamente (BJCP, 2017). O amargor presente na cerveja, vêm dos alfas ácidos, que variam de acordo com a qualidade do lúpulo. Estes são isomerizados em iso-alfa ácidos na fervura, tornando-os mais solúveis no mosto e aumentando seu amargor. Os óleos essenciais, que contribuem para aroma e amargor da cerveja acabada, são constituídos por uma série de diferentes compostos. Sendo muitos destes altamente voláteis, não podendo ser expostos a tempos prolongados de fervura, e geralmente são adicionados nos últimos 30 minutos de cozimento na etapa de fervura na brassagem (INSTITUTO DA CERVEJA ©, 2017).

Assim como outras plantas, o lúpulo possui diversas variedades. Acredita-se que hoje, existem aproximadamente 80 espécies distribuídas pelo mundo. Segue abaixo uma tabela com algumas espécies mais conhecidas no Brasil (Tabela 1).

Mesmo portando características positivas à cerveja, o lúpulo pode contribuir negativamente, descaracterizando o produto acabado. Alguns off-flavors, podem ser particulares do lúpulo utilizado. Os mais comuns são o isovalérico, característico de um lúpulo velho, ou oxidado. Este off-flavor remete a notas de queijo, ou até mesmo de chulé. E outro comum é o lighstruck, remetente ao cheiro de animal molhado, ou borra de café. Está atrelado a exposição da cerveja a raios ultravioleta, quanto maior o tempo de exposição, maior será a incidência do mau odor.

Tabela 1. Alguns dos lúpulos utilizados na indústria cervejeira.

Lúpulo	País de Origem	Teor de Alfa ácidos (médio)	Características Sensoriais	Estilo de Cerveja Indicada
Saaz	República Tcheca	3,8%	Cítricos/Picantes	Pilsen e Lager
Columbus	Estados Unidos	9,5%	Cítrico/Amadeirado/Especiarias	IPA e APA
Triple Pearl	Estados Unidos	7,6%	Cítrico/Frutado/Doce/Especiarias/Terroso	IPA e Pale Ale
Brewer's Gold	Inglaterra	7,5%	Especiarias/Frutado/Groselha	Ale e Lager germânica
Mittelfruh	Alemanha	4,3%	Gramíneo/Cítrico/Chá	Lager, Bock e Pilsen
Cascade	Estados Unidos	7,45%	Cítrico/Frutado/Floral/Terroso/Picante	APA e IPA
Comet	Estados Unidos	5,72%	Frutado/Cítrico/Gramíneo	IPA e APA
Mantiqueira	Brasil	4,00%	Frutado/Especiarias/Herbal	IPA

Fonte: Adaptado pelo autor de Brewhouse (2022).

#### 2.1.4 Levedura

As leveduras são seres unicelulares, eucariontes, microscópicos, pertencentes ao reino fungi. Possuem uma grande variedade entre si, sendo possível sua classificação mediante a morfologia das colônias e morfologia celular. As leveduras mais comumente utilizadas na indústria alimentícia, são denominadas leveduras de gemulação, que sob condições ótimas, se propagam por reprodução assexuada (KURTZMAN et al, 2011).

As leveduras são anaeróbias facultativas, o que lhes permitem que possam desenvolver-se tanto em ambientes com a presença do oxigênio, como também na ausência deste (ALVIM, 1999). Havendo a falta de oxigênio, ocorre a fermentação, processo ao qual ocorre a conversão dos açúcares em etanol e gás carbônico.



Em 1680, Van Leeuwenhoek, realizou as primeiras observações microscópicas da levedura, a partir do mosto cervejeiro. Contudo, em nenhum momento associou o metabolismo das leveduras com a fermentação alcoólica (RIBÉREAUGAYON et al., 2006). Anos mais tarde, em 1837, elas foram inseridas ao reino fungi por Theodor Schwann. Somente em 1857, Louis Pasteur comprovou que a fermentação alcoólica era realizada pelas leveduras, quando se demonstrou que as taxas de crescimento delas aumentavam com o aumento do nível de oxigenação do meio, porém a taxa de fermentação alcoólica era reduzida. Tal fenômeno foi denominado de “Efeito Pasteur” (LEHNINGER, 2008).

A levedura utilizada na fermentação cervejeira, varia de acordo com o estilo da bebida desejada. A espécie mais comumente usada ao estilo Ale, é a *Saccharomyces cerevisiae*. Enquanto, nas cervejas do estilo Lager usa-se a *Saccharommyces pastorianus*. Funcionalmente, elas diferem em suas temperaturas fermentativas, na capacidade de fermentar diferentes açúcares, nas condições ambientais e na capacidade de se estabelecer após a conclusão da fermentação e produção e/ou metabolismo dos produtos da fermentação (BJCP, 2017).

Na indústria cervejeira, as leveduras Ale e Lager são ditas, comumente, como leveduras de alta e baixa fermentação, respectivamente. Isto porque, enquanto as leveduras Ale predominam na superfície do tanque fermentador durante a fermentação alcoólica em temperaturas entre 15 e 22°C, as leveduras Lager predominam no fundo do tanque fermentador em temperaturas entre 7 e 12°C (BJCP, 2017).

Durante o processo de fermentação as leveduras, são responsáveis por uma riqueza de características sensoriais (DERTINARTE, 2007). Algumas delas desejáveis, assim como outras indesejáveis. A presença de diacetil, caracterizado por notas amanteigadas, é intrínseco a fabricação (BJCP, 2017). As leveduras o produzem durante os estágios ativos da fermentação. E deve-se ter o controle a sua respectiva redução, pois a própria levedura o metaboliza reduzindo-o aos níveis aceitáveis de percepção. Os fenóis e as álcoois fenóis, são produzidos por imperfeições ao longo do processo, principalmente nas etapas da brassagem, na formação do mosto. E eles são ainda mais acentuados, se forem identificadas falhas na assepsia do local.

Ésteres diferentes podem ser produzidos em excesso na fermentação devido aos níveis de oxigênio e temperaturas inadequadas (BJCP, 2017). Em contrapartida, ésteres frutados, como o acetato de isoamila, que remete a odores frutados de banana, é apropriado avaliando-se o estilo de cerveja produzida, como por exemplo as cervejas de trigo (estilo Weizen) (BJCP, 2017).

Antes mesmo de se adicionar a levedura ao mosto, para início da fermentação, dois pontos aos quais deve-se ter em conta são a viabilidade e a vitalidade celular. Viabilidade, diz respeito a porcentagem de células vivas numa dada cultura de células, analisando-se tanto o número de células vivas como também as células mortas. Já vitalidade, se refere a capacidade a qual a levedura tem de realizar atividade metabólica. O acompanhamento de ambas estas propriedades, é de suma importância ao bom desenvolvimento do processo fermentativo.

## **2.2 Etapas do Processo de Produção de Cervejas**

Inicialmente, temos quatro ingredientes básicos: água, malte, lúpulo e levedura. Estes, juntos, irão resultar em nossa excelência: a cerveja. Ao mosto, contendo o lúpulo, e os açúcares, obtidos a partir do malte e adjuntos, é adicionado a levedura, para fermentação. Após alguns dias, e com o devido acompanhamento, temos a bebida pronta para o envasamento.

### **2.2.1 Brassagem**

A etapa de brassagem, inicia-se pela moagem dos grãos de malte de cevada ou adjuntos. Esta se dá, na maioria das vezes, por moinhos tipo rolo. É de suma importância que estes equipamentos estejam sempre bem regulados, para que se tenha o rompimento do grão uniforme, visando favorecer os objetivos desta etapa (PICCIN et al, 2002).

Além da conversão do amido em açúcares fermentescíveis, um outro objetivo da brassagem é banhar os grãos moídos em água quente para que haja hidratação do endosperma e a ativação enzimática, afirma o Dr. Alexandre Fontes Pereira, professor do curso a distância CPT Homebrew. Estas enzimas terão a capacidade de degradar o amido em açúcares menos complexos e parte deles serão consumidos pela levedura produzindo álcool e CO<sub>2</sub> na fermentação.

A casca que envolve os grãos, é constituída por lignina, impedindo que haja a penetração de água e das enzimas. Isso impossibilita a conversão do amido presente no endosperma em açúcares fermentescíveis (MALLETT, 2014). Uma vez realizada a moagem, outro ponto relevante, é a integridade das cascas. Estas devem estar inteiras, para que possam satisfazer o processo de filtragem do mosto. Este processo se dá pela passagem do mosto, através das cascas decantadas no fundo dos tanques. A filtração do mosto é importante, pois retem particulados, alguns até indesejáveis, formados no processo de formação do mosto. De acordo com o Ministério da Agricultura e Abastecimento, a partir do ano de 2019, cap I, artigo 7º, define-se mosto como:

*“solução em água potável de compostos resultantes da degradação enzimática do malte, com ou sem adjuntos cervejeiros e ingredientes opcionais, realizada mediante processos tecnológicos adequados”.*

Uma vez realizada a filtragem final, os grãos passam por uma última lavagem a 75°C, visando aumentar o rendimento fabril, por meio da recuperação de possíveis vestígios de açúcares que, todavia, estejam juntamente com o malte moído. A etapa de mosturação é marcada por uma série de enzimas, que atuam sob diferentes condições de temperatura. Iniciando-se pela fitase, esta decompõe a fitina em fosfato de cálcio e magnésio e ácido fítico, e tem sua ação otimizada em pH entre 5,0 e 5,5, com temperatura ideal entre 35 e 50°C (KLEY, 2019; AGRÁRIA MALTE, [s.d.]). Sua função contribui para redução do pH de mostura, potencializando a atuação de outras enzimas.

As beta-glucanases, degradam os beta-glucanos, que são um aglomerado de polissacarídeos, formado por várias moléculas de glicose, que aumentam a viscosidade do mosto (KLEY, 2019; AGRÁRIA MALTE, [s.d.]). Atuam entre temperatura variante de 35 a 45°C, e seu desempenho é reforçado em pH de 4,5 e 5,5. Durante a malteação, contribuem reduzindo o teor dos beta-glucanos. Contudo, num processo com a adição de adjuntos de outros grãos não-malteados, é recomendável um repouso na mostura à temperatura de atuação das beta-glucanases.

As proteases, com pH ideal de 4,6 e 6,3, sob temperatura variando entre 45 e 55°C, contribuem na redução da turbidez final da cerveja (KLEY, 2019;

AGRÁRIA MALTE, [s.d.]). Elas degradam as longas cadeias de proteínas em cadeias menores, auxiliando posteriormente na fermentação. Ajudam na formação da espuma da cerveja, assim como, proporcionam maior solubilidade a alguns compostos proteolíticos.

Já as beta-amilases e alfa-amilases, degradam o amido. Enquanto as beta, o quebram sistematicamente em açúcares fermentáveis menores (a maltose), as alfa, o fazem de forma aleatória, gerando açúcares diversos, nem sempre fermentáveis (as dextrinas) (KLEY, 2019; AGRÁRIA MALTE, [s.d.]). Possuem atuação em pH entre 5,0 e 5,8, e temperaturas de 55 a 65°C para as beta-amilases e 65 a 72°C para as alfa-amilases.

A composição do mosto, é de suma importância às diferentes enzimas que nele atuam, devendo-se avaliar também as rampas de temperatura. Caso as condições não sejam ideais, a conversão de amido em açúcares fermentescíveis poderá ser mais demorada, impactando no rendimento fabril (CERVEJA E MALTE ©, 2018).

### 2.2.2 Fervura

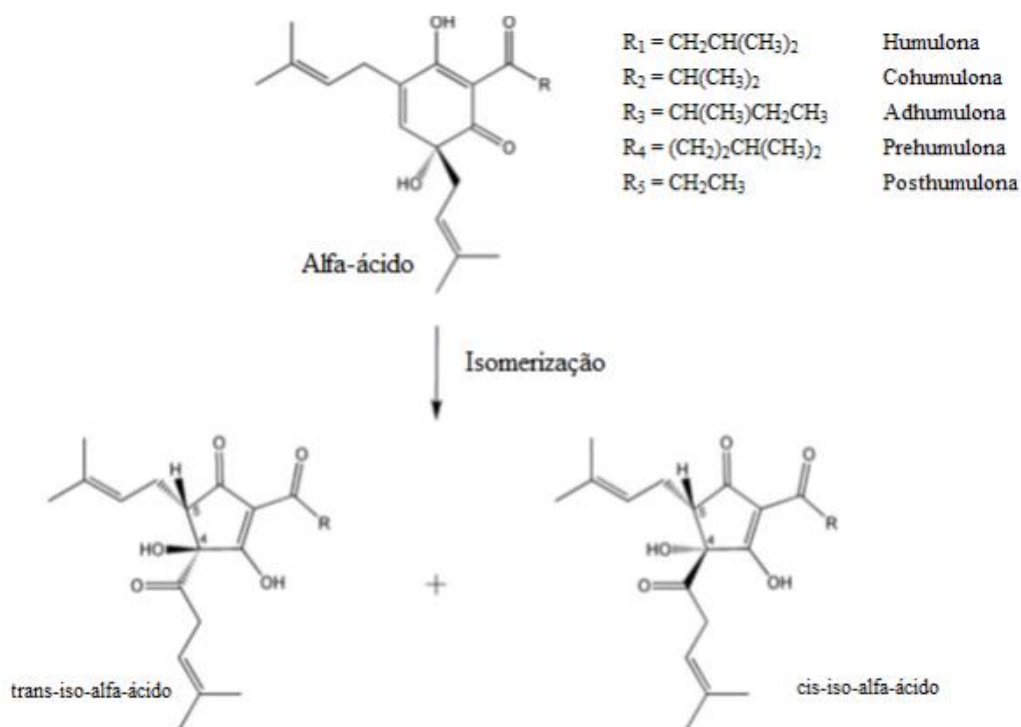
A fervura do mosto é realizada em temperatura média de 100°C, ocorrendo nesta etapa a adição do lúpulo (PICCINI et al., 2002). Os objetivos da fervura estão relacionados com a aromatização, concentração, esterilização e com a caramelização de alguns açúcares ali presentes, derivados das reações químicas de Maillard (PICCINI et al., 2002). Além destes citados, outra importante função da fervura, diz respeito a estabilização do mosto através da inativação das amilases e das proteases e coagulação de proteínas, que se precipitam no fundo, formando o que se denomina de “trub” (PICCINI et al., 2002).

O tipo de lúpulo e o momento de sua adição varia muito mediante o estilo de cerveja que se deseja (HIERONYMUS, 2012). Isso quer dizer que, eles podem ser acrescentados no início ou no final da fervura. Assim como também pode ser dosado de forma fracionada ao longo do tempo de cozimento. O lúpulo é comercializado em forma de pellets, extrato ou *in natura*, ou seja, nos cones do lúpulo propriamente dito.

O amargor característico de cada cerveja é atribuído a presença dos alfa-ácidos presentes nas resinas encontradas na lupulina (Figura 2). Estes por sua

vez, durante a fervura, são isomerizados, garantindo as notas de amargor, que vão divergir de acordo com o tipo utilizado. Já as particularidades aromáticas, estão relacionadas aos óleos essenciais característicos de cada tipo de lúpulo (SARDINHA, 2018; OLIVER 2003).

Figura 2: Isomerização de alfa-ácidos a iso alfa-ácidos.



Fonte: adaptado de Caballero, 2012.

Mediante o desejado, vale ressaltar o tempo de adição do lúpulo ao cozimento. Caso se busque atributos de amargor, o tempo estimado de inclusão deve permear os últimos 60 minutos de fervura (PICCINI et al, 2002). Já, se o desejado sejam notas aromáticas, estima-se que o lúpulo seja adicionado nos 15 minutos finais de cocção, para que não haja a excessiva volatilização dos óleos essenciais, fazendo com que o produto daquele mosto perca as propriedades almeçadas (PICCINI et al, 2002).

A ebulição do mosto garante não só a estabilidade coloidal, mas também biológica, bioquímica e gustativa (PICCINI et al, 2002). É importante que a temperatura de fervura se mantenha constante, garantindo a boa formação dos coágulos do mosto, de forma que estes sejam retirados de forma adequada posteriormente. Ademais, o controle do oxigênio deve ser constante, pois a presença deste durante o cozimento, atrapalha a coagulação proteica, da

mesma maneira que provoca a oxidação dos compostos ali presentes, propiciando características indesejáveis ao produto (PICCINI et al, 2002).

### 2.2.3 Fermentação

Uma vez concluída a fervura, é necessário que o mosto produzido passe ao tanque denominado de whirlpool. O mosto ali presente é bombeado tangencialmente as paredes do tanque, circulando em espiral. Até que este perca velocidade e propicie a deposição do “trub”, formado pelos subprodutos do mosto (PICCINI et al., 2002). Tendo como um de seus objetivos a clarificação do mosto, esta etapa antes da fermentação é de suma importância, pois além de prevenir a presença de off-flavors, facilita o resfriamento do mosto para inserção da levedura (OLIVER, 2003).

Em seguida, o líquido obtido, é resfriado através de trocadores de calor, que reduzem a temperatura de 80°C para 10°C, aproximadamente, no caso de cervejas Lager (PICCINI et al., 2002). Nesta etapa, também pode vir a ocorrer a deposição de complexos proteicos com resinas e taninos. Simultaneamente, nesta fase, o risco de contaminações por bactérias ou leveduras selvagens torna-se mais propício (PICCINI et al., 2002).

Para uma boa fermentação, são necessários o controle de três fatores básicos: a quantidade e a viabilidade da levedura utilizada, os níveis de oxigênio e os nutrientes presentes no mosto e o controle da temperatura. O principal objetivo da fermentação se baseia na conversão dos açúcares fermentescíveis em etanol e gás carbônico (DERTINARTE, 2007). Além disso, também vale ressaltar a importância de uma correta inoculação da levedura a ser utilizada. Pois, isso contribui diretamente, tanto na otimização do tempo de início do processo, como também na produção das características adequadas ao produto.

O teor de oxigênio a ser adicionado ao sistema, varia conforme a receita a ser utilizada. Mas, pode-se determinar que a oxigenação é realizada nos primeiros passos da fermentação, para que a levedura ali inserida, possa ter oxigênio suficiente para satisfazer seu metabolismo, de forma aeróbica. Uma vez se tenha consumido o oxigênio do ambiente, a levedura, de maneira anaeróbica, irá produzir os principais produtos fermentativos almejados, o etanol e o CO<sup>2</sup>.

O processo de fermentação, se divide em quatro fases: a adaptativa (ou fase Lag), a exponencial, a estacionária e a de morte celular (YEASTLAB, 2018).

Na primeira, como o próprio nome já cita, haverá a adaptação da levedura ao meio que lhe é oferecido. Devendo-se ter em conta fatores como taxa de inoculação, temperatura e composição do meio. Na fase exponencial, que ocorre na presença de oxigênio, há a multiplicação da levedura (YEASTLAB, 2018). O final desta fase é marcado pela formação do Krausen, espécie de espuma contendo células e proteínas formado sobre o mosto (YEASTLAB, 2018).

Com o consumo total do oxigênio, ocorre a fase estacionária, ou seja, a fermentação propriamente dita (PICCINI et al, 2002; YEASTLAB, 2018). O número de células geradas é equivalente ao número de células que morrem. O bom desempenho desta fase está atrelado a temperatura do mosto, assim como ao teor de açúcares. Ela sucede mediante produção de calor intenso, que deve ser rigorosamente controlado, e do CO<sup>2</sup>. Nela também se formam alguns subprodutos aromáticos, indesejáveis a cerveja. Além disso, é caracterizada pela intensa formação do Krausen e redução dos açúcares fermentescíveis (YEASTLAB, 2018).

Durante a fermentação são gerados subprodutos que são reutilizados pela levedura, tais como o diacetil e o acetaldeído, por exemplo (BJCP, 2017). Isso acaba propiciando a redução destes off-flavors no produto. Na última etapa, a de morte celular, devido a carência de nutrientes o número de células que morrem é maior do que a quantidade de células geradas (YEASTLAB, 2018). Caso permaneça nessa condição por muito tempo em temperatura elevada, terá início o processo de autólise da levedura, que deve ser controlado, pois ao mesmo tempo em que este atribui perfis positivos ao produto, tanto em caráter organoléptico, como em aspecto visual, pode acarretar na liberação de compostos indesejáveis na cerveja (YEASTLAB, 2018). Assim, após o fim da fermentação alcoólica, os tanques são resfriados em temperaturas próximas de 0°C e o fermento precipita (PICCINI et al, 2002).

As curvas de temperatura, mediante as variações das etapas são variáveis. Em cervejas de fermentação Ale, ou seja de alta fermentação, o sistema é otimizado na faixa entre 18 e 25°C (SCIENCE OF BIER ©, [s.d.]). Enquanto, nas fermentações estilo Lager, de baixa fermentação, o intervalo se dá entre 8 e 14°C (SCIENCE OF BIER ©, [s.d.]). Numa situação em que as leveduras sejam expostas a baixas temperaturas, estas trabalharão de forma mais lenta, devido à redução da atividade metabólica (WHITE E ZAINASHEFF,

2010). Já, se expostas a temperaturas elevadas, sem controle, o mais provável é que trabalhem de maneira acelerada, causando um possível estresse e a produção de compostos indesejáveis ao processo.

Ao fim da fermentação, o fermento acumulado no fundo dos tanques pode ser recolhido e armazenado para reutilização (PICCINI et al, 2002; OLIVER 2003). A seguir, a cerveja é maturada sob baixas temperaturas com o objetivo principal de clarificação e desenvolvimento do sabor (PICCINI et al, 2002). Nesta etapa, ocorre uma fermentação secundária, favorecendo a clarificação, por meio do depósito de leveduras e proteínas ali presentes, assim como alguns sólidos solúveis.

Na maturação, o gás carbônico, oriundo da etapa anterior, também sofre alterações por contrapressão do próprio CO<sub>2</sub>, que está sendo ali produzido. Isso contribui tanto na formação da espuma, como no corpo e no caráter do produto desejado. Sendo este corrigido, posteriormente, para padronização do produto após a cerveja ser filtrada (PICCINI et al, 2002).

No que diz respeito ao sabor, na maturação, ocorrem três grandes reações, que influenciam diretamente no produto final: a redução na concentração do ácido sulfídrico, do acetaldeído e do diacetil (PICCINI, et al. 2002). Neste processo as temperaturas variam entre 0 e 3°C, com um período de duração de 5 a 15 dias.

A clarificação, é a etapa que vai preceder o envase da cerveja. Uma vez esteja estável, a cerveja é filtrada para retirada de toda e qualquer partícula em suspensão restante. Esta filtração, geralmente é feita em filtros de terra diatomácea. Estes podem ser do tipo verticais, horizontais, em placas e suportes, ou até mesmo em filtros de vela (PICCINI et al, 2002).

Nesses filtros há a formação de uma fina camada de terra, que juntamente com o reforço de camadas de grãos mais finos, recobrem o meio. Uma vez compactado esse leito filtrante, ocorre o bombeamento da cerveja, de modo a que esta a atravesse, havendo assim a filtração de partículas em suspensão (PICCINI et al, 2002). Uma vez filtrado, o líquido resultante é destinado aos tanques, onde ocorre a correção do gás carbônico e preparação para o envase.



#### 2.2.4 Envase ou engarrafamento

A última etapa do processo cervejeiro é o envase. O envase, a depender da produção, se dá em barris, latas ou garrafas, que podem ser retornáveis ou descartáveis. O CO<sup>2</sup> oriundo da fermentação e maturação, é reutilizado no próprio processo. Estes tanques, pela fabricação terão um nível de pureza de gás carbônico próximo dos 99,5% (PICCINI, et al. 2002), contudo este não é o ideal para o envasamento. O gás carbônico, geralmente a nível industrial, é purificado por meio de um processo de tríplice lavagem.

Primeiramente ele é exposto a um tanque com água tratada, seguido pelo tanque de permanganato de potássio, que têm a capacidade de retirar a carga orgânica nele presente e por último, novamente transpassa um novo tanque com água tratada. Uma vez este gás carbônico atinja o nível de purificação entre 99,98 e 99,99%, este está pronto para a carbonatação da cerveja. Uma vez clarificada, a cerveja é carbonatada e preparada ao envase. Devendo-se ter atenção ao engarrafamento, pois o nível de carbonatação varia, mediante o tipo de vasilhame.

Uma etapa fundamental a todo o processo, e principalmente nesta etapa, diz respeito a higienização. As garrafas devem ser cuidadosamente higienizadas para receberem a cerveja. Estas, no mercado, geralmente, são mais encontradas nas cores marrom (âmbar), em tons de verde e transparentes. O cuidado com a cor da garrafa varia de acordo com o produto a ser envasado. Cervejas que são envasadas em garrafas transparentes ou até mesmo em garrafas esverdeadas, recebem uma lupulagem distinta, que é mais resistente a oxidação dada por radiação ultravioleta. Já as garrafas em âmbar, apresentam uma resistência maior, sem necessidade de alteração na lupulagem.

Outro fator importante, que interfere na oxidação da cerveja é o nível de oxigênio presente. Ele é um forte inimigo da cerveja. Com níveis de oxigênio altos na garrafa, a cerveja oxida antes do previsto, desenvolvendo características desagradáveis no produto. O ideal é que o nível da cerveja na garrafa fique entre dois e três dedos do final do gargalo, reduzindo a possibilidade de oxigenação. Estando a cerveja na garrafa e arrolhada. Na esteira de envase, esta passa por túneis ao processo de pasteurização. Este tem

por finalidade reduzir ou eliminar o máximo possível da concentração de microrganismos deteriorantes alimentícios.

A pasteurização se dá através de trocadores de calor, estes elevam a temperatura do produto a aproximadamente 60°C, onde a garrafa fica por um determinado tempo, seguida pela redução da temperatura, provocando o resfriamento do produto (PICCINI, et al. 2002). Este processo pode ocorrer de forma lenta, com o aquecimento do produto durante 30 minutos, através de esteiras, ou rápida, por meio de um trocador de placas, com o aquecimento do produto durando menos de 30 segundos. O choque térmico, garante a maior durabilidade do produto elevando o prazo de validade. De modo a que se tenha a comprovação de uma boa pasteurização, ao longo destes trocadores, se avalia o nível de UP.

Uma Unidade de Pasteurização (UP), diz respeito ao grau de pasteurização obtido com a cerveja a 60°C por minuto (CARBONATECH ©, 2022). Por exemplo, se a garrafa passa 10 minutos a 60°C, esta tem um valor de 10 UPs. Deve-se ressaltar, que este procedimento, de pasteurizar a cerveja, não se aplica a todos os estilos, pois a pasteurização acaba alterando as características da cerveja. Contudo, a pasteurização da cerveja não é uma exigência legislativa, pois muitos fabricantes, visando novos mercados, lançam no mercado bebidas sem pasteurizá-las, preservando seus atributos naturais.

Como citado anteriormente, uma das modalidades de se envasar a cerveja é em barris. Nele geralmente, é envasado o que é denominado de chope, que se diferencia da cerveja, legalmente, pela ausência do processo de pasteurização (MAPA, 2019). Outros fatores relacionados a carbonatação, a temperatura de armazenamento, ao envase, a dosagem de insumos e aos perfis organolépticos, ocasionam traços que as diferenciam. Sem embargo, seja chope ou cerveja, ambas caem no gosto do público.

### **2.3. Principais contaminantes microbianos**

Historicamente, a cerveja é uma das bebidas mais seguras para o ser humano. Isso se dá graças as seguintes características: seu pH ácido, seu teor alcoólico, a etapa da fervura, presente em seu processo de fabricação e aos efeitos inibidores do crescimento microbiano decorrentes do lúpulo.

Contudo, mesmo assim, alguns contaminantes podem se desenvolver na cerveja. Os agentes microbianos mais comuns, que possuem a capacidade de deteriorar a cerveja, sejam em aspecto visual, ou em termos de aroma e sabor, são as bactérias e as leveduras selvagens.

### 2.3.1 Deterioração Bacteriana

A presença do álcool, o baixo teor de oxigênio, o nível de CO<sub>2</sub>, os iso-alfa ácidos do lúpulo, sua taxa de acidez, tudo isso, além do esgotamento nutritivo ocorrido na fermentação, fazem da cerveja, em termos microbiológicos, uma bebida estável. No entanto, bactérias gram-negativas, assim como gram-positivas podem ser encontradas no produto acabado.

Dentre as bactérias gram-positivas, as mais encontradas e patogênicas à cerveja são os *Lactobacillus spp* e os *Pediococcus spp*.

### 2.3.2 Bactérias Gram Positivas

Geralmente, as bactérias degradantes de cerveja gram positivas são as ácido lácticas, do gênero *Lactobacillus* e *Pediococcus*. São ditas positivas, já que uma vez expostas ao violeta de genciana e lugol, reagem, acabam adquirindo coloração roxa ou azulada. Este processo é facilitado pela parede celular desse tipo de células serem mais espessas e constituídas por peptidoglicanos e ácidos teicóicos.

#### *Lactobacillus*

São microrganismos pleiomórficos na aparência, variando sua forma de longos e delgados bacilos até pequenos cocobacilos (STEWART e RUSSELL, 1998). Contudo, vale-se ressaltar que nem todos os *Lactobacillus* são deteriorantes, pois nem todos conseguem se desenvolver na cerveja. Nelas, as duas espécies mais comuns e deteriorantes são o *Lactobacillus brevis* e o *Lactobacillus lindneri*.

Enquanto o *Lactobacillus brevis*, é heterofermentativo e se desenvolve em condições de pH entre 4 e 6, sob temperatura média de 30°C, o *Lactobacillus lindneri*, é altamente resistente não somente ao lúpulo, como a altas temperaturas, tendo crescimento otimizado entre 19 e 23°C.

Quanto aos termos deteriorantes na cerveja, por meio do gênero *Lactobacillus*, sabe-se que eles podem acarretar a cerveja problemas de turbidez, acidez e odores desagradáveis (adocicados, amanteigados ou que remetam a mel), resultantes de suas ações metabólicas.

#### *Pediococcus*

São bactérias de caráter anaeróbico, facultativas e homofermentativas. Seu crescimento é dado em pares ou tétrades. Seus produtos metabólicos, geralmente deterioram a cerveja aumentando seu teor de acidez, assim como, o desenvolvimento de mais diacetil. Porém, seus subprodutos, podem variar de acordo com as condições ofertadas no ambiente.

São mais comuns em cervejas estilo Lager. Isto ocorre, pela temperatura de fermentação ser mais baixa, favorecendo a ação dos *Pediococcus*, em relação aos *Lactobacillus*. Além disso, acredita-se que os contaminantes *Pediococcus*, se ligam a levedura na etapa fermentativa, o que colabora para propagar a contaminação. As espécies mais encontradas desse gênero são *Pediococcus damnosus* e *Pediococcus clausenii* (DANIELSEN et al., 2007).

#### 2.3.3 Bactérias Gram Negativas

Quando expostas ao violeta de genciana e lugol, e posteriormente lavadas em álcool, perdendo a coloração, elas adquirem a coloração avermelhada, uma vez submetidas a solução de safranina. Além disso, ao contrário das gram positivas, estas células possuem a parede celular mais delgada e compostas por uma maior proporção lipídica. As deteriorantes de cerveja mais comuns são do gênero *Pectinatus*, *Megasphaera*, *Zymophilus*, as *Zymomonas* e algumas do gênero *Enterobacteriaceae*.

#### *Pectinatus*

São bacilos anaeróbios, móveis, não esporulados e com flagelos laterais. Quando jovens, possuem alto poder de ação, enquanto os mais velhos, desenvolvem movimentos de tipo serpente (LEWIS e YOUNG, 1995; HOUGH et al., 1982). Sua temperatura ideal de crescimento é entre 15 e 40 °C, num meio com pH de 3,5 a 6,0.

Nas cervejarias, a presença destas bactérias, desenvolvem no produto odores fecais. As mais conhecidas são a *P. cerevisiiphilus* e *P. frisingensis*, que produzem ácido acético, propiônico, succínico e ácido láctico. Assim como, sua presença, além de danificar a turbidez da cerveja, acarreta o odor de ovo podre, relacionado a formação do sulfeto de hidrogênio e metil mercaptano (SAKAMOTO & KONINGS, 2003).

### *Megasphaera*

Com formato esférico, ligeiramente ovaladas, anaeróbicas e sésseis (LEWIS e YOUNG, 1995). Estão dispostas de forma pareada, ou assemelhando-se a cachos de uva. Dentre suas espécies, as *M. cerevisiae*, *M. paucivorans* e *M. sueciensis*, estão diretamente relacionadas com a deterioração de cervejas.

Sua multiplicação é otimizada a temperatura média de 28°C, em meio a pH superior a 4,1. Assim como as *Pectinatus*, sua presença na cerveja, desenvolve odores desagradáveis, que remetem a características fecais. Além destes, outros off-flavors são desenvolvidos, como o ácido acético, o isovalérico e o butírico (LEE, 1994).

### *Selenomonas*

Assemelham-se a bastões, com 10 espécies encontradas até o momento. Sendo que destas, apenas a *Selenomonas lactificex*, foi isolada em associação com levedura de cervejeiro contaminada, e mais recentemente, mostrou-se relacionada com a presença de biofilmes em superfícies de maquinários no envasamento (BIOMÉRIEUX, 2020).

### *Zymophilus*

As bactérias deste gênero, apresentam-se retas, ligeiramente curvas a hastes helicoidais. Podendo estarem dispostas de maneira única, em pares, ou até mesmo em curtas cadeias. As espécies *Zymophilus paucivorans* e *Zymophilus raffinovorans*, sempre são encontradas na produção de cervejas, no que diz respeito as leveduras ou em resíduos da fabricação de cervejas.

Se multiplicam em cervejas com o pH do meio acima de 4,3. Sua deterioração na cerveja, além do aumento na turbidez do produto, ela acarreta a

produção dos ácidos propiônico, acético e succínico, assim como o metil mercaptano, dimetil sulfeto e sulfeto de hidrogênio (JESPERSEN e JAKOBSEN, 1996).

#### Bactérias do ácido acético

Presentes em frutas, plantas e no ar, tipo gram negativas, as bactérias ácido acéticas, principalmente as do gênero *Gluconobacter* e *Acetobacter*, são resistentes a baixos níveis de oxigênio, assim como as resinas do lúpulo, o que não dificulta sua propagação. Elas realizam a oxidação do etanol em ácido acético (SAKAMOTO e KONINGS, 2003; JESPERSEN e JAKOBSEN, 1996), e são comumente usadas na produção comercial do vinagre (ácido acético). Seus impactos na degradação na cerveja se manifestam, nas características básicas de aroma e sabor, como também, atribuindo uma elevação na turbidez da cerveja.

#### Enterobactérias

Várias espécies pertencentes a família das *Enterobacteriaceae*, estão relacionadas a deterioração do mosto não fermentado, e em processo fermentativo. Elas são responsáveis pelo desenvolvimento de diacetil e dimetil sulfeto. Contudo, quando a contaminação está relacionada ao processo de fermentação, estes microrganismos, são responsáveis pela atribuição de odores frutais e herbais (VAUGHAN et al., 2005; VAN VUUREN, 1996). Acerca da presença de bactérias coliformes, sabe-se que a problemática causadora de seu desenvolvimento, está diretamente atrelada as más condições de higiene e sanitárias do ambiente.

#### *Obesumbacterium spp* e *Citrobacter freundii*

Difícilmente são encontradas na cerveja acabada, tanto pelo teor alcoólico, como também pelo baixo pH. São anaeróbicas facultativas, podendo serem móveis ou sésseis. Apresentam-se na forma de bacilos, com temperatura ótima de crescimento entre 25°C e 37°C. Encontradas nos estados iniciais da fermentação, competem pelos nutrientes ali presentes, o que faz com que esta ocorra de forma mais lenta. Sua presença resulta na produção de muitos gases indesejáveis, como o dimetil-sulfeto (DMS), diacetil ou até mesmo odores fecais,

e estão associadas a condições precárias de higiene durante ou pós processamento (FELIPE, 2008).

#### *Klebsiella terrigena e Klebsiella oxytoca*

Oriundas das matérias primas, são identificadas nas cervejarias, e valorizadas, por produzirem notas fenólicas, no mosto, ideal a alguns tipos de cerveja. Essas notas são decorrentes da descarboxilação do ácido ferúlico do mosto semelhante a uma levedura selvagem (BIOMÉRIEUX, 2020).

#### *Rahnella aquatilis*

Relacionada a leveduras de alta fermentação e ao mosto fermentado. Foi isolada de fontes diversas, como, água, solo, alimentos, material vegetal e alguns espécimes clínicos (BIOMÉRIEUX, 2020).

### 2.3.4 Leveduras selvagens

Levedura selvagem é toda aquela que não foi usada de maneira deliberada e controlada no processo, ou seja, diferente da cepa normalmente utilizada na fabricação daquela determinada cerveja (MIDDLEKAUFF, 1994). Geralmente essas são derivadas do ambiente. Em cervejas do tipo lambic ou de fermentação espontânea, as selvagens favorecem o processo. Já nas cervejas que possuem rigorosos controles, as leveduras selvagens são fontes diretas de contaminação, que acabam por degradar o produto, e devem ser evitadas. Quando discutidas elas se dividem em “leveduras de *Saccharomyces*” e “leveduras não-*Saccharomyces*”.

#### Leveduras Não-*Saccharomyces*

Se propagam tanto na presença, como na ausência de oxigênio. Sendo resistentes ao álcool, assim como em ambientes de baixo pH. Isso permite, que haja competição entre os microrganismos ali presentes, em busca dos nutrientes necessários a metabolização. Algumas leveduras do gênero *Debaryomyces* e *Pichia*, desenvolvem na cerveja aumento da turbidez, desenvolvimento de ésteres e formação de película na superfície da cerveja (HAYASHI, et al., 2007). Enquanto outras no gênero *Brettanomyces* e *Dekkera*, quando presentes no estilo de cerveja inadequado, promovem a formação de ácido acético (HAYASHI,

et al., 2007). A variar do estilo de cerveja fabricado, sabe-se que elas podem ser desejáveis, como também indesejáveis.

De modo geral, elas são tidas como oportunistas, pois se disseminam mediante as condições ofertadas no ambiente. Contudo, em cervejarias mais modernas, este problema se mantém controlado. Sendo mais comum naquelas em que todavia possuem parte de seu processo armazenado em barris.

#### Leveduras *Saccharomyces*

Quando uma cepa foge da tradicional *Saccharomyces cerevisiae*, resulta em impactos no sabor e no bom desempenho fermentativo. E dentre as *Saccharomyces*, a mais problemática se torna a *S. diastaticus*, encontrada mundialmente na indústria cervejeira. Esta possui um gene distinto, que faz com que produza uma enzima denominada glucoamilase que hidrolisa os açúcares mais complexos, acarretando a superatenuação do produto final (JESPERSEN e JAKOBSEN, 1996). Algumas *Saccharomyces* produzem notas fenólicas, pela descarboxilação dos ácidos fenólicos. Mas, nos estilos “Saison”, elas podem agregar positivamente em aroma, sabor e aspecto. Ademais, algumas *S. cerevisiae*, em pH específico, secretam proteínas (zemocidas), que acabam eliminando a cepa de cultivo original. São as chamadas leveduras assassinas (“killer”), desenvolvendo notas desagradáveis a cerveja (VENTURINI FILHO e CEREDA, 2001).

#### **2.4 Legislação Brasileira sobre contaminantes na cerveja**

Com respeito aos parâmetros legais legislativos, os órgãos públicos responsáveis pelas normativas referentes a produtos alimentícios, são: a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), o MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) e o MS (Ministério da Saúde). Estes três órgãos, conjuntamente, e periodicamente, revisam as normativas, e havendo necessidade, alteram-nas buscando a adequação das empresas fabricantes deste gênero.

Dentro das normativas e padronizações, voltadas às cervejas, as mais recentes datam nos dias 10 de dezembro de 2019 e 23 de dezembro do mesmo ano. A primeira, refere-se à padronização da identidade e qualidade aos



produtos para cervejarias, e a segunda, apresenta os padrões microbiológicos para alimentos.

Mediante normativa, publicada no Diário Oficial da União, em dezembro de 2019, de maneira geral, a preocupação dos órgãos, a evitar-se problemas sanitários à população está relacionada aos seguintes microrganismos: *Salmonella*, coliformes totais, esporos de clostrídios e *Listeria monocytogenes* (ANVISA, 2019). Contudo, tratando-se de cervejas se têm algumas modificações.

As cervejas ditas “sem álcool”, devem obedecer às regras contidas na resolução RDC ANVISA nº 12/2001, que decreta a ausência de coliformes a 35°C/50ml de amostra (MAPA, 2019). Já em cervejas com álcool, ou seja, aquelas que possuem teor deste igual ou superior a 2% em volume (2,00%v/v), deve-se ter atenção (MAPA, 2019).

Em cervejas alcoólicas, o cuidado se faz necessário pois, se compreende que ela é um produto comercialmente estéril, pois como retratado anteriormente, passa pelo processo de pasteurização. Além disso, o pH do produto, interfere em sua classificação. Pela instrução normativa nº 60 de 23 de dezembro de 2019, anexo III, para alimentos de baixa acidez (pH maior que 4,5):

*"O alimento não deve apresentar sinais de alterações que indiquem a presença de micro-organismos capazes de proliferar em condições normais de armazenamento e distribuição." Quando houver alteração, o resultado deve ser interpretado como Insatisfatório com Qualidade Inaceitável.*

Enquanto que, para alimentos ácidos ou acidificados (pH menor que 4,5), não são citados critérios de avaliação conclusivos.

## **2.5 Prevenção e controle de contaminações microbianas nas matérias-primas**

As indústrias alimentícias, devem possuir um HACCP (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) de modo a manter a sua cadeia produtiva livre de perigos. Com a indústria cervejeira, não é diferente. Esta visa reduzir o máximo possível os riscos, e conseqüentemente, as fontes de contaminação a seus

produtos. Nelas, os maiores agentes causadores de degradação são as bactérias e leveduras.

No processo de fabricação cervejeiro, um dos pontos contaminantes de maior criticidade e que exige rigoroso controle se concentra nas matérias-primas, nos aditivos e nas superfícies as quais o produto terá contato. Para a água, deve-se ter em conta sua fonte, os tratamentos aos quais ela fora submetida, suas condições de armazenamento e sua temperatura. Preventivamente, os laudos técnicos cedidos pela autoridade hídrica e análises periódicas por parte da empresa que a utiliza, são necessários para acompanhamento (BIOMÉRIEUX, 2020).

A levedura, sendo uma cultura viva, é uma fonte inerente de contaminação. Por precaução, um fabricante de confiança, assim como um controle analítico contínuo, é de suma importância a combater-se contaminações (MAKINEN et al, 1981). No uso dos grãos, mais especificamente o malte, o pó, presente nele merece uma maior atenção, por portar partículas inerentes a contaminação. Para um bom controle, é importante ter boas condições de armazenamento, um fornecedor que garanta confiabilidade, assim como a levedura, e também, a exigência dos certificados de qualidade, por parte do cliente ao comprador (BIOMÉRIEUX, 2020).

Para o uso de adjuntos, não são vistos como fontes contaminantes diretas, pois geralmente são adicionados ao processo, próximos do cozimento. Um fabricante respeitável, juntamente com os certificados de análise do fornecedor, garante a redução dos riscos. Contudo, ao mesmo tempo, a empresa compradora, deve certificar-se por meios de análises microbiológicas internas (MAKINEN et al, 1981).

Tratando-se das instalações e tubulações, o aço inoxidável é o material mais recomendado. Sua relativa maleabilidade, a facilidade de limpeza e sua elevada resistência, fazem dele um dos materiais mais indicados (BIOMÉRIEUX, 2020). Contudo, nos pontos aos quais a soldagem é realizada, podem permanecer algumas fissuras que acabam acarretando acúmulo de contaminantes. Toda e qualquer superfície, que acabe entrando em contato com o produto, independente da etapa produtiva, deve ser devidamente sanitizada.

Uma das maneiras mais eficazes de se manter o controle microbiológico, está na limpeza por CIP, sigla para *Clean In Place*. Nele, a planta é higienizada

sem necessidade de desmonte prévio, a limpeza é realizada no processo de circulação ou passagem, ou seja, no próprio local (KESSLER, 2022). Postumamente a esta limpeza, é de grande valia, análises microbiológicas, que constatem a real eficácia do procedimento, garantindo que a linha esteja pronta para um novo ciclo produtivo.

Outros pontos de criticidade, que se devem ter em conta são: os trocadores de calor, os tanques que armazenam a cerveja em suas etapas, os barris (àquelas cervejarias que as produzem de modo mais artesanal), tubulações e mangueiras, as unidades de pasteurização e as de envasamento (MAKINEN et al, 1981). Além disso, os instrumentos de medição presentes no ambiente, também devem receber cuidados evitando-se contaminações.

O ambiente cervejeiro, principalmente é de grande importância o seu monitoramento, não devendo ser negligenciado. As contaminações podem se dar desde a atmosfera, em particulados suspensos ou insetos, desde o próprio piso, por meio da manifestação de possíveis pragas e afins (PAIER E RINGHOFER, 1997). É relevante que se haja, uma frequência analítica tanto microbiológica, como ambiental, visando a redução de possíveis contaminantes.

Como fora citado, além dos meios externos a uma dada fábrica, de modo ao combate de contaminações microbianas, a sistemática interna é de suma importância. O local de instalação do laboratório às requeridas análises é fundamental, sendo necessária sua instalação próxima da área produtiva (BIOMÉRIEUX, 2020). Visando-se as análises aplicadas, estas ficam sobre a necessidade do laboratório de controle de qualidade. Através destas, por meio dos resultados analíticos, a equipe terá de intervir visando melhorias, algumas destas devendo serem feitas em tempo hábil.

Atualmente, as análises que mais são realizadas neste processo, são o desenvolvimento de culturas em meio ágar, após coleta microbiológica, e o teste de bioluminescência ATP (Adenosina trifosfato) (BIOMÉRIEUX, 2020). O primeiro teste, trata-se de um teste quantitativo, pois passados uma média de 5 dias, havendo o desenvolvimento de colônias nas placas, este não especificará o microrganismo em questão. Para isso, será necessário a realização de lâminas para visualização microscópica, onde será possível a especificação do micróbio ali presente. Já o teste de bioluminescência, ele é instantâneo, sendo seu resultado obtido em alguns minutos. Realizado após o CIP, ele expressa a

eficácia da limpeza. Caso os valores sejam convenientes, segue-se a próxima etapa produtiva, mediante as normativas da empresa. Mas, se os valores não forem suficientes, os procedimentos deverão ser repetidos, e posteriormente novamente analisados.

Logo, cabe a cada empresa fabricante, mediante suas políticas, a melhor maneira de analisar e controlar a presença de microrganismos em suas unidades fabris. Juntamente, com o cumprimento das normativas estabelecidas pelos órgãos competentes, estas têm por obrigação o fornecimento de produtos de qualidade, evitando-se possíveis transtornos a saúde da população.

## **2.6 Aplicabilidade do controle microbiológico numa indústria cervejeira no estado de Pernambuco**

Uma indústria de grande porte localizada na região metropolitana de Recife-PE, cujo funcionamento é 24 horas por dia, dividindo-se em três turnos, foi visitada de forma a se registrar os principais procedimentos internos de controle microbiológico. Considerando a necessidade de ferramentas de controle de qualidade funcionarem de modo a atender a respectiva demanda, dois técnicos, no primeiro turno, e dois nos turnos seguintes, se revezam, sendo um para cada turno.

A frequência analítica de todos os controles executados, seja ela físico-química ou microbiológica, é revisada periodicamente pelo corporativo da empresa, localizado em São Paulo. Ainda, foi informado que ocorrem treinamentos e reuniões a cada melhoria realizada. Estas reuniões buscam o alinhamento e entendimento da realidade de cada unidade industrial, objetivando a homogeneidade e aplicabilidade dos procedimentos realizados.

O controle microbiológico da água cervejeira é realizado diariamente e semanalmente, mediante o plano de coleta. A unidade fabril dispõe de 7 poços, devidamente estruturados e isolados, de modo a evitar possíveis contaminações externas. A coleta destes, varia de acordo com a fonte que esteja abastecendo a fábrica naquele período. As coletas de amostras de água são realizadas em frascos plásticos estéreis com a utilização de detergente extran 5%, água deionizada esterilizada e álcool 70%, sendo também utilizados escovetes de limpeza flambados com maçarico. As amostras de água são filtradas em membrana e dispostas nos seguintes meios de cultura: PCA, M-endo e MFC,

cada um com sua respectiva finalidade (tabela 2). As amostras submetidas ao M-endo e MFC, são inoculadas a temperatura de aprox. 20°C, e lidas após 24h. Enquanto as amostras em PCA, são inoculadas a mesma temperatura e analisadas após 48h. Como os meios são destinados a microrganismos concretos, havendo a proliferação de colônias, as medidas cabíveis são tomadas.

Tabela 2. Meios de cultura e suas finalidades

<b>Meio de Cultura</b>	<b>Função</b>
PCA	Utilizado para contagem total de bactérias aeróbicas e anaeróbicas heterotróficas facultativas em água e demais produtos de utilização humana.
M-endo	Utilizado para contagem de coliformes em águas pela técnica por filtro de membrana.
MFC	Utilizado para detecção e enumeração de coliformes fecais por membrana filtrante.

Fonte: Elaborada pelo autor com base no Prolab, 2022.

No que diz respeito ao controle das demais matérias primas, nem todas são analisadas na unidade. O adjunto utilizado (a maltose) e o CO<sub>2</sub> (oriundo e beneficiado na própria unidade fabril), são acompanhados internamente e com uma periodicidade semanal. Já o lúpulo e o malte, são acompanhados mediante garantias de qualidade do próprio fornecedor e análises realizadas pelo corporativo, respectivamente, sendo seus resultados repassados as unidades para controle.

Para toda e qualquer higienização dos tanques e tubulações por CIP, estes são coletados e analisados pelo controle de qualidade da unidade. São coletados similarmente aos poços, seguindo a mesma metodologia. Depois, também por sistema de filtração por membranas, as amostras são filtradas, passadas ao meio de cultura e inoculadas pelo mesmo período, à posterior leitura.

Para cada fechamento de tanque de cerveja, é realizada a respectiva coleta. Seguindo-se o mesmo fluxo de coleta das águas, garantindo assim confiabilidade e a preservação da amostra. Usando a mesma metodologia de

filtração por membranas, são expostas ao meio de cultura e inoculadas, entre 4 e 5 dias, para que depois haja a realização de leitura.

Quando o CIP é realizado no envasamento, são analisados os bicos da enchedora, mediante o quantitativo recomendado pela metodologia utilizada. Esta análise, é realizada via luminômetro, que avalia o residual de proteínas vestigiais de matéria orgânica ou microrganismos ali presentes. O resultado é obtido de maneira imediata, após alguns minutos pelo equipamento. Sendo o resultado satisfatório, prossegue-se com o envase. Caso contrário, deve-se repetir a higienização da linha, para repetição da análise, até que se obtenha o resultado adequado.

Além disso, as amostras envasadas, são acompanhadas microbiologicamente. Sendo latas ou garrafas, as respectivas produções são coletadas de maneira “crua”, ou seja, sem serem pasteurizadas. Enquanto as garrafas são analisadas a cada 5 dias, as latas o são a cada 10, até completarem um ciclo de 30 dias. Nesse caso, a contaminação da amostra é indicada pelo seu aspecto visual, pois ocorre sua turvação. Caso isso ocorra, estas são submetidas ao meio de cultura adequado e inoculadas, à posterior análise microscópica, com objetivo de se compreender o microrganismo ali desenvolvido, sendo as mais comuns bactérias lácticas e leveduras selvagens.

Havendo alguma anomalia microscópica se realiza a comunicação imediata ao responsável técnico da assepsia da fábrica. Este, mediante os resultados representados, realiza um rastreamento da produção envolvida, avaliando as etapas daquele referido lote. Por meio das análises laboratoriais, e demais registros no sistema, ele se encarrega de detectar o possível momento ou a fonte da contaminação para que assim se tomem as medidas cabíveis.

### **3. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Deste modo, mediante o trabalho apresentado, o controle microbiológico ao longo do processo cervejeiro é de suma importância. Não somente ao de cerveja, mas também a toda e qualquer cadeia produtiva do gênero alimentício. As fontes de contaminação microbianas podem se apresentar tanto nas matérias primas, como nas tubulações de passagem e até no próprio ambiente.

A cerveja em si, possui já características que dificultam o desenvolvimento de microrganismos em seu meio, contudo não o impedem. Os principais microrganismos contaminantes no processo são as bactérias e as leveduras selvagens. Mas simultaneamente, sabe-se que isso varia de acordo com o estilo de cerveja produzido. O que é prejudicial à alguns estilos, em outros já não o é.

As etapas produtivas, devem estar sempre em monitoramento, visando uma produção de qualidade. A presença dos diferentes contaminantes, acarreta o desenvolvimento de diferentes características sensoriais, algumas agradáveis e outras desagradáveis. Os mecanismos de prevenção e combate microbiológico, variam. Estes vão desde a certificação de fornecedores confiáveis, ao controle analítico pelas empresas cervejeiras.

#### 4. REFERÊNCIAS

Agrária Malte. **Guia Prático de Produção para Cervejarias**. Agrária Malte, [s.d.]. Disponível em: [https://www.agraria.com.br/extranet\\_2016/uploads/AgromalteArquivo/guia\\_pratico\\_producao\\_de\\_cervejas\\_\\_\\_cervejarias\\_1596195085250.pdf](https://www.agraria.com.br/extranet_2016/uploads/AgromalteArquivo/guia_pratico_producao_de_cervejas___cervejarias_1596195085250.pdf). Acesso em mar de 2022.

ALVIM, I. et al. **Produção piloto de derivados de levedura (*Saccharomyces sp.*) para uso como ingrediente na formulação de alimentos**. Brazilian Journal of Food Technology, v. 2, n. 1, 2, p. 119, 1999.

ANTONIAZZI, N. **X Workshop de cervejas especiais – Cultivo de Cevada Cervejeira no Brasil**. Agrária Malte, 2019. Disponível em: [https://www.agraria.com.br/extranet\\_2016/uploads/AgromalteArquivo/cultivo\\_de\\_cevada\\_cervejeira\\_1596198955523.pdf](https://www.agraria.com.br/extranet_2016/uploads/AgromalteArquivo/cultivo_de_cevada_cervejeira_1596198955523.pdf). Acesso em: mar de 2022.

AN VUUREN, H. J. J. **Gram-negative spoilage bacteria**. In: PRIEST, F. G.; CAMPBELL, I. (Ed.). *Brewing Microbiology*. 2 ed. London: Chapman e Hall, 1996. p. 163-191.

ARREGUY, F. **O que é verdade sobre o lúpulo 100% brasileiro**. Pão e Cerveja, 2017. Disponível em: <https://paoecerveja.uai.com.br/novidade/detalhes-sobre-o-lupulo-100-brasileiro/>. Acesso em: mar de 2022.

ARTNETT, D. J.; VAUGHAN, A.; VAN SINDEREN, D. **Antimicrobial-producing lactic acid bacteria isolated from raw barley and sorghum**. Journal of the Institute of Brewing, London, v. 108, n. 2, p. 169-177, 2002.

BACK, W. **Pré-requisitos técnicos e tecnológicos para engarrafamento 'estéril frio'**. Brauwelt Int., Vol 15, pp. 192-201

BATISTA BARRETO, H.B. **Implantação de um sistema da qualidade em uma microcervejaria com foco no controle microbiológico**. 2019. 39 p. Bacharel em Engenharia Química. UFERSA, Mossoró, 2019.

BEER JUDGE CERTIFICATION PROGRAM. **BJCP beer exam study guide**. Minnesota. 2017. 77p.

BICHARA, N. **Água cervejeira: desmistificando esse “bixo papão” – parte I**. Lamas Brew Shop, 2017. Disponível em:



<https://www.lamasbrewshop.com.br/blog/2017/09/agua-ervejeira-desmistificando-este-bixo-papao-parte-i.html>. Acesso em: mar de 2022.

Biomériux. **Spoilers de cerveja: quais são os principais spoilers da cerveja para se preocupar?** Biomériux, 2020. Disponível em: PARTE 1 - Spoilers de cerveja: Quais são os principais spoilers da cerveja para se preocupar |? microbiologia industrial bioMérieux (biomerieux-industry.com). Acesso em: fev de 2022.

Biomériux. **Spoilers de cerveja: onde eles podem ser encontrados?** Biomériux, 2020. Disponível em: PARTE 3 - Spoilers de cerveja: Onde eles podem ser encontrados |? microbiologia industrial bioMérieux (biomerieux-industry.com). Acesso em: fev de 2022.

Biomériux. **Spoilers de cerveja: quais fatores levar em consideração na escolha da tecnologia de teste certo?** Biomériux, 2020. Disponível em: PARTE 4 - Detecção de estragos de cerveja: quais fatores levar em consideração ao escolher a tecnologia de teste certa |? microbiologia industrial bioMérieux (biomerieux-industry.com). Acesso em: fev de 2022.

Biomériux. **Spoilers de cerveja: quais opções tecnológicas?** Biomériux, 2020. Disponível em: PARTE 5 - Detecção de Detecção de Spoilage de Cerveja: Quais as escolhas tecnológicas |? microbiologia industrial bioMérieux (biomerieux-industry.com). Acesso em: fev de 2022.

Blog Bom de Beer. **O que é lúpulo na cerveja? Saiba para que serve este ingrediente.** Blog Bom de Beer, 2021. Disponível em: <http://blog.bomdebeer.com.br/2021/04/o-que-e-lupulo-na-erveja/>. Acesso em: abr de 2022.

BRASIL. Lei nº 6.871, de 04 de junho de 2009. Estabelecer os padrões de identidade e qualidade para produtos de cervejaria, bem como os respectivos parâmetros analíticos. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-65-de-10-de-dezembro-de-2019-232666262>. Acesso em: mar de 2022.

BRASIL. Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356>. Acesso em: abr de 2022.

BUENO, M. **O que é o drinkability no mundo cervejeiro?** Um gole ou mais!, 2015. Disponível em: <https://www.umgoleoumais.com/o-drinkability/>. Acesso em: mar de 2022.

Central Brew. **Levedura para cerveja: entenda a sua função no processo.** Central Brew, [s.d.]. Disponível em: <https://centralbrew.com.br/blog/levedura-para-cerveja-entenda-a-sua-funcao-no-processo/>. Acesso em: mar de 2022.

Central Brew. **Lúpulo: o que é e qual sua função na cerveja artesanal?** Central Brew, [s.d.]. Disponível em: <https://centralbrew.com.br/blog/lupulo-o-que-e-e-qual-e-a-sua-funcao-na-cerveja-artesanal/>. Acesso em: mar de 2022.

Central Brew. **Processos de produção de cerveja artesanal: fermentação.** Central Brew, [s.d.]. Disponível em: <https://centralbrew.com.br/blog/processos-de-producao-de-cerveja-artesanal-fermentacao/>. Acesso em: abr de 2022.

Central Brew. **Processos de produção de cerveja artesanal: maturação.** Central Brew, [s.d.]. Disponível em: <https://centralbrew.com.br/blog/processos-de-producao-de-cerveja-artesanal-maturacao/>. Acesso em: abr de 2022.

Central Brew. **Processos de produção de cerveja artesanal: resfriamento.** Central Brew, [s.d.]. Disponível em: <https://centralbrew.com.br/blog/processos-de-producao-de-cerveja-artesanal-resfriamento/>. Acesso em: abr de 2022.

Central Brew. **Whirlpool: descubra o que é e seus benefícios.** Central Brew, [s.d.]. Disponível em: <https://centralbrew.com.br/blog/whirlpool-descubra-o-que-e-e-seus-beneficios/>. Acesso em: abr de 2022.

Cervejeiro Raíz. **Água Cervejeira.** Cervejeiro Raíz, 2018. Disponível em: <http://cervejeiroraiz.com.br/agua-cervejeira/>. Acesso em: mar de 2022.

Cervejeiro Raíz. **Malte – tudo o que você precisa saber.** Cervejeiro Raíz, 2018. Disponível em: <http://cervejeiroraiz.com.br/malte-tudo-o-que-voce-precisa-saber/>. Acesso em: mar de 2022.

DERTINARTE, A. **Sua Excelência a Cerveja.** 1ª ed. São Paulo: All Print Editora, 2007.

DINSLAKEN, D. **Cerveja puro malte ou cerveja com adjuntos: qual a melhor?** Con Cerveja, 2017. Disponível em: <https://concerveja.com.br/puro-malte/>. Acesso em: mar de 2022.

DINSLAKEN, D. **Lúpulo na cerveja: como otimizar o aproveitamento.** Con Cerveja, 2018. Disponível em: <https://concerveja.com.br/lupulo/>. Acesso em: mar de 2022.

DINSLAKEN, D. **Pasteurização da cerveja**. Con Cerveja, 2018. Disponível em: <https://concerveja.com.br/pasteurizacao/>. Acesso em: mar de 2022.

DITTMER, P. DESMOND, J. **Principles of Food, Beverage, and Labor Cost Controls**. 8ª ed. Nova Jersey: Wiley Editora, 2005.

DRAGONE, G. et al. **Revisão: Produção de cerveja: Microrganismos deteriorantes e métodos de detecção**. Brazilian Journal of food technology, Campinas, v. 10, n. 4, p. 240-251, out./dez. 2007.

Escola Superior de Cerveja e Malte. **Cerveja na panela: como trabalhar as rampas de temperatura de acordo com as enzimas**. Escola Superior de Cerveja e Malte, 2018. Disponível em: <https://cervejaemalte.com.br/blog/cerveja-na-panela-como-trabalhar-rampas-de-temperatura-de-acordo-com-enzimas/>. Acesso em: mar de 2022.

Escola Superior de Cerveja e Malte. **O que o lúpulo faz na cerveja mesmo?** Escola Superior de Cerveja e Malte, 2014. Disponível em: <https://cervejaemalte.com.br/blog/o-que-o-lupulo-faz-na-cerveja/>. Acesso em: mar de 2022.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT, [s.d.]. disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em mar de 2022.

GARRETT, O. **A mesa do MESTRE-CERVEJEIRO**. 1ª ed. São Paulo: Senac São Paulo, 2012.

HIERONYMUS, S. **Hops: the practical guide to aroma, bitterness and the culture of hops**. Colorado: Editor Brewers, 2012.

HOUGH, J. S.; BRIGGS, D. E.; STEVENS, R.; YOUNG, T. W. **Malting and Brewing Science: volume II hopped wort and beer**. 2 ed. London: Chapman e Hall, 1982. p. 389-914.

HUGHES, G. **Cerveja feita em casa**. 1ª ed. São Paulo: Editora Publifolha, 2014. Instituto da Cerveja Brasil. **Afinal, o que o lúpulo faz na cerveja?** Instituto da Cerveja Brasil, 2017. Disponível em: <https://www.institutodacerveja.com.br/blog/n145/dicas/afinal-o-que-o-lupulo-faz-realmente-na-cerveja>. Acesso em: mar de 2022.

Instituto Science of Beer. **Fermentação de cervejas: conceitos básicos e tipos de fermentação**. Instituto Science of Beer, [s.d.]. Disponível em: <https://www.scienceofbeer.com.br/br/post/-fermentacao-de-cervejas-conceitos->



NELSON, M. **The Barbarian's Beverage: A History of Beer in Ancient Europe**. Abingdon, Oxon: Routledge, 2005.

O que-e.com. **O que é a viabilidade celular?** O que-e.com, [s.d]. Disponível em: <https://oque-e.com/o-que-e-a-viabilidade-celular/>. Acesso em: abr de 2022.

PAIER, H. RINGHOFER, R. **Biologische Betriebskontrolle em der Praxis**. 1997.

PALMER, J. KAMINSKI, C. **Water: A Comprehensive Guide for Brewers**. Colorado: Editor Brewers, 2013.

PASTEUR, L. 1822-1895. (1860). **Mémoire sur la fermentation alcoolique**. [S.l.]: Mallet-Bachelier.

PICCINI, R. MORESCO, C. MUNHOS, L. **Clarificação**. UFRGS, 2002. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/alimentus1/feira/prcerea/cerveja/clari.htm>. Acesso em: abr de 2022.

PICCINI, R. MORESCO, C. MUNHOS, L. **Envase**. UFRGS, 2002. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/alimentus1/feira/prcerea/cerveja/envase.htm>. Acesso em: abr de 2022.

PICCINI, R. MORESCO, C. MUNHOS, L. **Fermentação**. UFRGS, 2002. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/alimentus1/feira/prcerea/cerveja/ferme.htm>. Acesso em: abr de 2022.

PICCINI, R. MORESCO, C. MUNHOS, L. **Fervura**. UFRGS, 2002. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/alimentus1/feira/prcerea/cerveja/fervur.htm>. Acesso em: abr de 2022.

PICCINI, R. MORESCO, C. MUNHOS, L. **Pasteurização**. UFRGS, 2002. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/alimentus1/feira/prcerea/cerveja/pasteu.htm>. Acesso em: abr de 2022.

RAW, I. et. al **A biologia e o homem**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2001.

RIBÉREAUGAYON, P. et al. **The Microbiology of Wine and Vinifications**. 2<sup>a</sup> ed. Inglaterra: Wiley Editora, 2006.

ROSENTHAL, R. **Malte: o que é e qual seu papel na cerveja?** Hominilupulo, 2021. Disponível em: <https://www.hominilupulo.com.br/malte/>. Acesso em: mar de 2022.

ROSENTHAL, R. **Moagem dos grãos: como e por que fazer?** Hominilúpulo, 2019. Disponível em: <https://www.hominilupulo.com.br/moagem-dos-graos/>. Acesso em: mar de 2022.

SAKAMOTO, K.; KONINGS, W. **Beer spoilage bacteria and hop resistance.** International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 89, n. 2-3, p. 105-124, 2003.

SANTOS, L. **Treinamento Operador Cervejeiro.** São Paulo: Grupo Petrópolis, 2013.

SARDINHA, V. **Lúpulo.** Mundo Educação, [s.d.]. Disponível em: <https://mundoeducacao.uol.com.br/curiosidades/lupulo.htm>. Acesso em: abr de 2022.

SILVA, D. **Aprenda mais sobre o processo de fermentação da cerveja artesanal.** Condado da Cerveja, 2016. Disponível em: <https://www.condadodacerveja.com.br/aprenda-sobre-o-processo-de-fermentacao/>. Acesso em: abr de 2022.

SILVA, S. **Contaminantes microbianos no processo de produção de cerveja.** 2017. 51 p. Pós-graduação em microbiologia. UFMG, Belo Horizonte, 2017.

SINDCERV. **A história da cerveja.** SINCERV, [s.d.]. Disponível em: <https://www.sindicerv.com.br/historia-da-cerveja/>. Acesso em: mar de 2022.

SPIES, J. **Estudo sobre a isomerização de alfa-ácidos de lúpulos na produção de cerveja artesanal em diferentes condições de processo.** 2018. 65 p. Bacharel em Engenharia Química. UNIVATES, Lajeado, 2018.

TEIXEIRA, S. **Envase da cerveja: como realizar corretamente?.** CPT, 2021. Disponível em: <https://www.cpt.com.br/cursos-pequenasempresas-comomontar/artigos/envase-de-cerveja-como-realizar-corretamente>. Acesso em: mar de 2022.

TEIXEIRA, S. **Moagem de grãos de malte para fabricação de cerveja artesanal.** CPT, 2021. Disponível em: <https://www.cpt.com.br/cursos-treinamentoprofissional/artigos/moagem-de-graos-de-malte-para-a-fabricacao-de-cerveja-artesanal#:~:text=A%20moagem%20dos%20gr%C3%A3os%20de,CO2%20do%20produto%20final>. Acesso em: mar de 2022.

TEIXEIRA, S. **Mostura, brassagem ou maceração: você sabe o que é?** CPT, 2021. Disponível em: <https://www.cpt.com.br/dicas-cursos-cpt/mostura-brassagem-ou-maceracao-voce-sabe-o-que-e>. Acesso em: mar de 2022.

VENTURINI FILHO, W. G.; CEREDA, M. P. Cerveja. In: LIMA, U. A. et al. **Biotecnologia Industrial: biotecnologia na produção de alimentos**. São Paulo: Edgar Blücher, 2001. p. 91-144. v. 4.

WHITE, C. ZAINASHEFF, J. **Yeast: the practical guide to beer fermentation**. Colorado: Editor Brewers, 2010.

YEASTLAB. **Você conhece as fases de fermentação da sua cerveja?** YEASTLAB, 2018. Disponível em: <http://www.yeastlab.com.br/destaques/voce-conhece-as-fases-da-fermentacao-de-sua-cerveja>. Acesso em: abr de 2022.

YOSHIE, C. Sem Título. EMBRAPA, 2010. Disponível em: [https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia\\_de\\_alimentos/arvore/CONT000girlwnqt02wx5ok05vadr12ap522l.html](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia_de_alimentos/arvore/CONT000girlwnqt02wx5ok05vadr12ap522l.html). Acesso em: mar de 2022.