

**CENTRO UNIVERSITÁRIO BARÃO DE MAUÁ
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**BRUNO BOTELHO
FERNANDO HENRIQUE MELON DE PAULA VOLTOLINI
JOÃO VITOR FIRMINO DA SILVA**

**ISOLAMENTO DE LEVEDURAS SELVAGENS PARA A FERMENTAÇÃO DE
MOSTO DE CERVEJA**

**Ribeirão Preto
2020**

BRUNO BOTELHO
FERNANDO HENRIQUE MELON DE PAULA VOLTOLINI
JOÃO VITOR FIRMINO DA SILVA

**ISOLAMENTO DE LEVEDURAS SELVAGENS PARA A FERMENTAÇÃO DE
MOSTO DE CERVEJA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro Universitário Barão de Mauá, como pré-requisito para o título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Dra. Analu Egydio dos Santos

Ribeirão Preto

2020

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

I83

Isolamento de leveduras selvagens para a fermentação de mosto de cerveja/
Bruno Botelho; Fernando Henrique Melon de Paula Voltolini; João Vitor Firmino
da Silva - Ribeirão Preto, 2020.

21p.il

Trabalho de conclusão do curso de Ciências Biológicas do Centro
Universitário Barão de Mauá

Orientador: Dra. Analu Egidio dos Santos

1. Cerveja 2. Levedura 3. Fermentação I. Botelho, Bruno II. Voltolini, Fernando
Henrique Melon de Paula III. Silva, João Vitor Firmino da IV. Santos, Analu
Egidio dos V. Título

CDU 663.252.4

Bibliotecária Responsável: Iandra M. H. Fernandes CRB⁸ 9878

RESUMO

A história humana é marcada por diversas descobertas que influenciaram diretamente na forma de interação do homem com a sociedade. Entre tais descobertas está a cerveja, uma das bebidas mais consumidas no mundo, produzida a partir da fermentação da mistura de água, malte e lúpulo, por meio de leveduras, sendo as mais utilizadas as do gênero *Saccharomyces*. As leveduras são micro-organismos eucariontes pertencentes ao reino dos fungos. Estes micro-organismos são os grandes responsáveis pela transformação de matérias primas em vários produtos de grande importância, não apenas para a alimentação humana e animal, mas também em pesquisas envolvendo células, assim atribuindo as mesmas grande importância econômica. Neste sentido, o objetivo deste trabalho é realizar uma investigação por meio de revisão da literatura científica ao tema sobre o isolamento de cepas de leveduras selvagem que podem ser encontrada em diversos locais como frutos flores e seu potencial na fermentação para produção de cerveja, o que levaria à redução do custo das leveduras. Atualmente o Brasil vem sofrendo grande ascensão em seu mercado cervejeiro, fazendo com que a busca por melhores insumos para a produção de cervejas de alta qualidade por pequenas e micro cervejarias seja cada vez maior, sendo as leveduras um dos insumos com maior valor de mercado, o que faz com que o custo de produção aumente. Contudo, com os avanços biotecnológicos, novas pesquisas vêm desenvolvendo cepas de leveduras a partir de espécies nativas que demonstram grande potencial fermentativo, o que pode se tornar uma alternativa para as pequenas cervejarias. Além do seu grande potencial fermentativo, novas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* podem trazer uma gama de novas características sensoriais para os estilos de cerveja mais produzidos, aumentando assim sua procura no mercado.

Palavras-chave: Cerveja. Levedura. Fermentação. Biotecnologia.

ABSTRACT

Human history is marked by several discoveries that directly influenced the way of interacting with each other. Among such discoveries is beer, one of the most consumed beverages in the world, produced from the fermentation of the mixture of water, malt and hops, using yeast, the most used of the *Saccharomyces* genus. Yeasts are eukaryotic microorganisms belonging to the kingdom of fungi. These microorganisms are largely responsible for the transformation of raw materials into various products of great importance, not only for human and animal food, but also in research involving cells, thus attributing the same great economic importance. In this sense, the objective of this work is to carry out an investigation by reviewing the literature on the isolation of wild yeast strains that can be found in different places such as fruit flowers and their fermentation capacity for beer production, which would lead to reduction in the cost of yeasts. Currently, Brazil has been undergoing a great rise in its beer market, making the search for better inputs for the production of high quality beers by small and micro breweries increasingly larger, with yeasts being one of the inputs with the highest market value, which causes the production cost to increase. However, with biotechnological advances, new research has been developing yeast strains from native species that demonstrate great fermentative potential, which can become an alternative for small breweries. In addition to their great fermentative potential, new strains of *Saccharomyces cerevisiae* can bring a range of new sensory characteristics to the most produced beer styles, thus increasing their demand in the market.

Keywords: Beer. Yeast. Fermentation. Biotechnology.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	5
2	METODOLOGIA	7
2.1	Pesquisa bibliográfica	7
2.2	Conceitos de leveduras e fermentação: aspectos gerais	7
2.2.1	Mosto para produção de cerveja	7
2.2.2	As leveduras e a fermentação alcoólica.....	8
2.3	História da produção de cerveja no brasil.....	9
2.4	Leveduras utilizadas no processo cervejeiro	9
2.5	Importância da prospecção de leveduras selvagem	10
2.6	Leveduras selvagens e aplicação nos processos industriais.....	12
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
3.1	Leveduras híbridas.....	13
3.2	Gêneros de leveduras e suas aplicações.....	16
3.3	Leveduras selvagens e o mercado nacional.....	16
4	CONCLUSÃO	18
	REFERÊNCIAS	19

1 INTRODUÇÃO

As leveduras selvagens foram isoladas e identificadas em bagaço de casca de tangerina (*Citrus reticulata*), tendo sido classificadas como aptas à fermentação do mosto de cerveja como apresentado no trabalho de Lopes (2016). Por meio dos testes de exclusão, avaliação de fermentação de fontes de carbono, análises da produção de H₂S, tolerância ao estresse osmótico e ao etanol produzido, análise da porcentagem de floculação, testes morfológicos, crescimento em diferentes temperaturas e a identificação molecular.

Em uma produção de cerveja utiliza-se levedura para fermentação do mosto, as leveduras utilizadas para esta atividade são importadas e por isso têm um alto custo. Este trabalho aborda pesquisas sobre leveduras selvagens para o mesmo emprego. As leveduras, em sua maioria, possuem tolerância com alimentos com menor quantidade de água, a levedura *Saccharomyces* é um exemplo bastante utilizado para produção de alguns alimentos, sendo um deles as bebidas alcoólicas (CARVALHO, 2010).

As leveduras selvagens como apontado por Ohara (2014) são colônias de leveduras provenientes do meio ambiente que podem ser coletadas de amostras de água, solo, flora e matéria orgânica morta como casca de arvores.

Como citado por Torres e Moraes (2000) as leveduras são fungos que têm permeado a história da humanidade há milhares de anos. Vêm sendo manipuladas causando um grande impacto positivo na produção de alimentos e, por conseguinte, influenciado o próprio processo de desenvolvimento socioeconômico da humanidade. O pão, a cerveja e o vinho representam os produtos mais expressivos do processo de manipulação desses microrganismos ao longo do tempo.

Em todos esses processos, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* teve um papel de destaque, pois além de ser considerada um dos microrganismos mais úteis ao homem, essa levedura é um dos sistemas eucarióticos mais bem conhecidos (TORRES; MORAES 2000).

Dentre os diferentes usos de leveduras na produção de alimentos, destaca-se a produção de cerveja, produção que será abordada neste trabalho.

A cerveja chegou ao Brasil trazida pela família real portuguesa em 1808. Após a chegada da família real os portos foram abertos às nações amigas e a Inglaterra foi primeira a introduzir a cerveja na colônia (MEGA *et al.*, 2011).

A definição de cerveja pela legislação brasileira atual mostra que os insumos utilizados são água, malte, lúpulo e levedura podendo ser acrescentados adjuntos de grãos não maltados ao malte. O processo da produção de cerveja começa com a mistura de malte e água

que será submetido ao cozimento. O amido do malte é transformado em açúcar formando assim o mosto; o malte será separado do mosto para posterior fervura e ao final desta etapa adiciona-se o lúpulo. O último estágio é o resfriamento do mosto e o inóculo de levedura, sendo este o processo de adição da cepa *Saccharomyces sp.* para dar início a fermentação. A água é um importante elemento na produção, portanto quanto mais pura melhor o resultado da cerveja (MEGA *et al.*, 2011).

Apesar dos processos industrializados em larga escala em grandes cervejeiras, destaca-se no mercado a produção de cervejas artesanais. Para estes processos tem-se parâmetros a serem seguidos como teor alcoólico, amargor (IBU – *International Bitterness Units*), pH, turbidez (NTU), cor e densidades (TOLEDO *et al.*, 2018).

As cervejas são classificadas em dois estilos ALE e LAGER e as leveduras utilizadas para estes estilos são, respectivamente, as cepas *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces uvarum*. Há dois tipos de fermentação: a alta para cervejas ALE e a fermentação baixa para cerveja LAGER. Existem diferenças bioquímicas entre estes tipos de cepas, o que justifica manter uma distinção entre elas. As cepas tipo LAGER possuem os genes MEL que produzem a enzima extracelular (melibiase) permitindo a utilização do dissacarídeo melibiose (glicosegalactose). Porém, as cepas tipo ALE carecem desses genes MEL, impossibilitando o uso da melibiase. Além disso, cepas ALE podem crescer a temperaturas mais altas (37°C), enquanto as cepas LAGER não apresentam crescimento a temperaturas superiores a 34°C (BORTOLI *et al.*, 2013).

Alguns autores apresentam trabalhos de isolamento de espécies selvagens de leveduras, o que pode ter um uso potencial na produção cervejeira contribuindo para a busca de um microrganismo nacional, de baixo custo. De acordo com Pinto *et al.* (2016) as linhagens de levedura atualmente utilizadas na produção da cerveja brasileira são importadas ou de origem estrangeira.

Levando em consideração o grande aumento na demanda de insumos para a produção da cerveja, o trabalho visa o potencial microbiológico para este fim. Considerando-se o alto valor das leveduras importadas para as micro cervejarias o trabalho visa a possibilidade de uma levedura acessível e nacional.

O objetivo do trabalho é investigar, por meio de revisão narrativa, o isolamento de cepas de leveduras selvagem e seu potencial de fermentação para produção de cerveja minimizando assim o impacto do custo das leveduras no processo industrial.

2 METODOLOGIA

Para a elaboração da revisão foram realizadas pesquisas sobre o isolamento de leveduras selvagens para fermentação de cerveja em revistas eletrônicas, artigos científicos, livros, teses e dissertações, no período de 2010 a 2020.

As bases consultadas foram Google Acadêmico e SciELO, empregando-se as palavras-chave levedura, isolamento, fermentação e cerveja. A busca foi realizada por publicações em português, inglês e espanhol.

Foram selecionados os trabalhos que fizeram menção ao potencial de fermentação de cerveja por meio de leveduras selvagens.

2.1 Pesquisa bibliográfica

Esta revisão aborda desde a história da produção de cerveja no Brasil até os gêneros de leveduras com suas aplicações.

2.2 Conceitos de leveduras e fermentação: aspectos gerais

As leveduras assim como a *Saccharomyces cerevisiae* apresentam uma morfologia esférica unicelular. As quais são encontradas na natureza de forma abundante.

Sua reprodução ocorre por meio do brotamento de um novo indivíduo a partir da superfície da célula mãe, com posterior separação do broto formado, sendo possível também o processo de reprodução por divisão celular.

Os *Saccharomyces cerevisiae* são micro-organismo anaeróbios facultativos assim como a maioria das leveduras, dessa forma são indivíduos capazes de se desenvolverem em vários ambientes. O *Saccharomyces cerevisiae* em ambientes com baixo nível de oxigênio são capazes de realizar o processo de fermentação de açúcares gerando assim o etanol e o dióxido de carbono. (SILVA; SOUZA, 2013).

2.2.1 Mosto para produção de cerveja

O mosto de cerveja é a mistura entre água e cereais maltados, rico em açúcares fermentáveis e proteínas, o que faz com que seja o ambiente ideal para a reprodução e desenvolvimento de leveduras.

Para a obtenção de açúcares fermentáveis, durante a produção cervejeira, o malte

precisa passar por processos físico-químicos para quebra dos amidos. Ao colocar os cereais maltados em água com temperatura entre 60°C a 65°C por determinados períodos de tempo, as beta-amilases contidas no interior dos cereais são ativadas e quebram as moléculas de amido, fazendo com que se transformem em açúcares fermentáveis.

O mosto para produção de cerveja deve apresentar pH em torno de 7.0 a 5.0, para que as leveduras possam desempenhar uma melhor fermentação (OLIVEIRA, 2011).

Durante a mistura, além da quebra dos amidos em açúcares, ao expor o malte a certas faixas de temperatura, ocorre também a quebra de proteínas em aminoácidos, que são importantes na nutrição das leveduras. Mostos que levam cereais com grande quantidade de proteínas em sua composição apresentam cervejas com maior retenção de espuma (CARVALHO; BENTO; SILVA, 2006).

2.2.2 As leveduras e a fermentação alcoólica

Entre as etapas mais importantes durante a fabricação de cerveja, a fermentação alcoólica é a que mais se evidencia, fazendo com que as leveduras ganhem grande destaque.

Para que a cerveja apresente boa qualidade após a fermentação, alguns fatores devem ser controlados cuidadosamente, como o pH, a temperatura em que ocorrerá a fermentação e os níveis de oxigênio presentes.

Após a etapa de fervura, que é responsável pela pasteurização, o mosto é rapidamente resfriado para que as leveduras possam ser inoculadas. Nesta etapa o mosto ainda apresenta altos níveis de oxigênio dissolvido, fazendo assim com que as leveduras realizem processos aeróbios, armazenando nutrientes e energia para produção de membrana para que possam reproduzir, aumentando assim o número de células no mosto.

Após todo o oxigênio ser consumido, as leveduras alteram o metabolismo de aeróbico para anaeróbico, onde consomem os piruvatos dos glicídios simples produzindo etanol e gás carbônico. Etapa controlada pelo pH e pela concentração de álcool que dependendo da acidez e da concentração do etanol pode se tornar um ambiente tóxico para as leveduras podendo levar a destruição da célula.

Com o aumento da temperatura as leveduras metabolizam mais rapidamente os açúcares, fazendo com que a fermentação ocorra mais rapidamente. Contudo, com uma maior atividade metabólica as leveduras produzem subprodutos indesejáveis devido a competitividade que se torna presente, fazendo com que mais células morram, adicionando assim sabores não agradáveis ao final da fermentação (HEINZ, 2014).

2.3 História da produção de cerveja no Brasil

De acordo com o livro de Santos (2004) a história da cerveja no Brasil remonta ao ano de 1654, quando a Companhia das Índias Orientais enviou para terras brasileiras, junto com os holandeses que por aqui chegavam, algumas amostras da bebida, além de sua receita e de todo o equipamento necessário para prepará-la, estabelecendo assim a ideia de montar a primeira cervejaria brasileira.

Mas, logo depois a cerveja, assim como os holandeses, desapareceu do Brasil, surgindo novamente apenas em 1808, quando a Família Real portuguesa trouxe de volta a bebida ao país.

Justamente quando a cachaça e o vinho dominam o Brasil, o grande conhecedor de cerveja Dom João VI abriu os portos para outros países, permitindo as importações por volta de 1808, principalmente de produtos ingleses, devido a aliança que havia entre Portugal e Inglaterra. Dessa forma as cerveja Ales inglesa rapidamente se tornaram os produtos mais populares e ocuparam completamente o mercado. Para se ter uma ideia, cervejas de outros países eram vendidas para a Inglaterra antes de poderem ser vendidas ao Brasil. Isso aumentou o custo a ponto dessa situação verificar-se inviável, porém, por volta de 1830, a decisão oficial foi aumentar os impostos de importação, incluindo produtos britânicos. Devido ao preço alto, tornou-se quase impossível comprar cerveja (SANTOS, 2004).

De acordo com Limberger (2013) a introdução da cultura cervejeira também se deu pelos imigrantes europeus, principalmente, pelos alemães na região Sul do Brasil.

Inicialmente a produção de cerveja era em pequena escala apenas para abastecer as famílias locais. Ao final do século XIX a produção chamou a atenção do governo brasileiro que já era capaz de abastecer todo o mercado. Com o desenvolvimento e crescimento das cervejarias as que mais se destacaram no Brasil foram a Cervejaria Antártica em São Paulo e a Cervejaria Brahma no Rio de Janeiro.

2.4 Leveduras utilizadas no processo cervejeiro

Leveduras são fungos eucariontes, unicelulares e que apresentam paredes celulares à base de quitina, um carboidrato nitrogenado. Elas são utilizadas, de forma muito importante, em processos que apresentam uma concentração alta de açúcar ou sal e desenvolvem em um pH próximo de 5,0. Os homens utilizam o fungo em produções industriais como bebidas e alimentos e seus subprodutos metabólicos como antibióticos, enzimas, entre outros (SILVA; SOUZA, 2013).

Figura 1 - Levedura do gênero *Saccharomyces uvarum*.



Fonte - VisualPhotos.

As leveduras utilizadas nos processos de fermentação cervejeira são as *Saccharomyces cerevisiae* para alta fermentação conhecida como ALE e a *Saccharomyces uvarum* para baixa fermentação conhecida como LAGER (OLIVEIRA, 2011).

De acordo com Costa (2019) a levedura ALE apresentou melhor desempenho em sua temperatura ótima (temperatura alta) tendo uma eficácia na produção de glicerol e etanol. Na condução de fermentação para LAGER a levedura sofreu um estresse e não teve um bom desempenho, pois priorizou a divisão celular e não a produção de etanol e glicerol.

Atualmente existem trabalhos sobre a hibridização de leveduras que buscam um melhor desempenho em metabolização, redução de subprodutos, fermentação em diferentes temperaturas. Como apresentado no trabalho de Telini (2019), as leveduras híbridas representam um potencial alternativo para a indústria cervejeira obtendo sucesso na criação de cepas com capacidade de fermentação em diferentes temperaturas.

2.5 Importância da prospecção de leveduras selvagem

A fermentação está entre os processos mais importantes durante a fabricação de cervejas, pois, devido a ela muitas características são adicionadas a bebida, como o teor alcoólico, sabores e aromas, que podem fazer com que a cerveja possua muitos estilos e notas marcantes diferentes (HEINZ, 2014).

Para que a fermentação ocorra de forma a adicionar tais características à cerveja, é

preciso fazer a utilização de cepas de leveduras capazes de desempenhar o processo fermentativo de forma que libere no mosto substâncias derivadas de seu metabolismo que acrescentem os sabores desejados de forma certa. Conforme Oliveira (2008, p. 3) “É um processo de grande importância no qual são obtidos os álcoois industriais, a produção de diversas bebidas alcoólicas destiladas e não destiladas, e, como produto secundário, o gás carbônico”.

Grande parte das cervejas produzidas no Brasil possuem características LAGER, ou seja, apresentam aromas e sabores mais limpos com o teor alcoólico baixo, podendo variar de 4,5 a 5,5% de álcool. Além do estilo LAGER também são produzidas cervejas ALE, que possuem notas mais frutadas e marcantes, com teor alcoólico mais alto, isso devido ao tipo de fermentação que é mais intensa e com maior liberação de ésteres e taninos pelas leveduras (CARVALHO; BENTO; SILVA, 2006).

Durante a elaboração da receita para a produção de cervejas com alta qualidade, além da escolha de um bom malte e de lúpulos de boa safra, faz toda a diferença utilizar cepas de leveduras com alto desempenho durante a fermentação pois são as melhores cepas. E a obtenção delas envolve uma série de processos, entre os quais a prospecção.

Como demonstrado no trabalho de Ohara (2014) a prospecção de leveduras é o processo responsável pela captura e seleção de colônias de leveduras selvagem provenientes do meio ambiente, podem ser coletadas a partir de amostras de água, solo, vegetação, como flores, frutos, folhas e matéria orgânica morta, como cascas de árvores.

Após as amostras serem coletadas, elas são colocadas em meios de culturas ricos em substâncias que propiciam o desenvolvimento de micro-organismos. Quando utilizado meio de cultura líquido o próximo passo é o isolamento de leveduras por meio da técnica de diluições sucessivas que consiste em acrescentar a amostra coletada em meio de cultura líquido e esperar determinados períodos de tempo até que haja o desenvolvimento dos microorganismos presentes na amostra e em seguida semear o material em placas de Petri (CANALI, 2015).

Uma vez feita a semeadura em placas de Petri, são selecionadas apenas colônias de leveduras, excluindo assim, outros micro-organismos presentes na amostra, o processo é repetido sucessivas vezes até que haja apenas colônias puras de levedura.

Com o isolamento das leveduras selvagens feito e colônias formadas em placas de Petri, a etapa seguinte consiste em utilizar as cepas para a fermentação de mosto cervejeiro, desta forma avaliando seu desempenho fermentativo em determinadas condições de temperatura e pH, selecionando assim as cepas e linhagens que apresentam melhores

características para determinado estilo de cerveja e receita a ser produzida.

O processo de prospecção e isolamento de leveduras é realizado de forma relativamente simples e com baixo custo, o que mostra ser uma alternativa para pequenas e micro cervejarias durante sua etapa de fermentação, pois, podem diminuir os custos na produção e obter cepas com características exclusivas para cada receita.

2.6 Leveduras selvagens e aplicação nos processos industriais

Leveduras selvagens não são de cultivo e sim originadas de diversas fontes sendo o gênero *Saccharomyces* a mais importante, pois 80% das leveduras selvagens são deste gênero. Cada cepa tem uma contribuição bioquímica diferente para o resultado final da fermentação atribuindo fatores sensoriais diferentes (CARVALHO; BENTO; SILVA, 2006).

As leveduras têm uma grande aplicação biotecnológica para as indústrias e para a agropecuária. Um exemplo é a aplicação de leveduras como aditivo alimentar para alevinos de tilápia (*Oreochromis niloticus*). O uso da levedura nas rações proporcionou um melhor desempenho e não afetou a ingestão da ração (MEURER *et al.*, 2008).

Outro exemplo é a aplicação de leveduras não *Saccharomyces cerevisiae* para produção de vinho no estudo realizado por Couto *et al.* (2011). Para a fermentação do vinho foram inoculadas as leveduras *Candida valida* e *Pichia pijperi*, isoladas da jaca (*Arthocarpus heterophyllus* Lam) em combinação com a *Saccharomyces cerevisiae*. Esta combinação de leveduras não prejudicou o processo de fermentação do vinho, porém quando o teste sensorial foi realizado percebeu-se que o vinho obtido da fermentação da *Pichia pijperi* ficou intolerável ao paladar e ao olfato devido a geração de sulfeto de hidrogênio. A fermentação da *Candida valida* deixou o vinho mais atraente em relação ao paladar e ao aroma.

Existem estudos que mostram que a fermentação espontânea é mais aceitável pelo consumidor do que a fermentação comercial como aponta o estudo feito por Gabriel *et al.* (2012), em que obtiveram resultados promissores na aceitação da cachaça elaborada com fermentação espontânea do caldo de cana. A conclusão do estudo foi que não houve diferenças físico-químicas da cachaça com o uso de fermento natural ou comercial, porém houve diferença na fase de maturação em barris de carvalho em que o envelhecimento da cachaça foi melhor com a fermentação natural (selvagem).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados foram coletados com o intuito de demonstrar a importância do isolamento de uma cepa de levedura selvagem e sua capacidade de fermentação para produção de cerveja, minimizando assim o impacto do custo das leveduras no mercado cervejeiro, abordando também sua relação com o comércio no Brasil desde sua chegada até o presente momento, mostrando a evolução biotecnológica para o isolamento de leveduras e sua importância para a produção de produtos de qualidade com fácil acesso a micro e pequenas cervejarias.

3.1 Leveduras híbridas

Durante o processo fermentativo as leveduras podem agir de distintas maneiras de acordo com a cepa utilizada, cepas utilizadas em cervejas ALE adicionam características mais frutadas e encorpadas, com teor alcoólico mais alto, já aquelas com características LAGER são mais leves, menos frutadas, mais secas e de baixo teor alcoólico (Figura 2).

Ao realizar testes fermentativos, é possível observar que leveduras com características ALE suportam maiores níveis de estresse físico-químicos durante a fermentação, apresentando assim menores alterações. Já leveduras LAGER por fermentarem em temperaturas mais baixas, deixam a bebida mais leve e mais fácil de ser consumida em maiores quantidades.

Em ambos os casos, quando as mesmas são condicionadas a faixas de temperaturas não ideais para a fermentação, produzem substâncias que alteram drasticamente o sabor final da bebida, os chamados *Off-flavors* que podem fazer com que a cerveja tenha sabores não padronizados, deixando o produto com qualidade inferior.

Contudo com a hibridização entre cepas com características ALE e LAGER pode-se observar resultados com grande potencial fermentativo em várias faixas de temperatura e altos níveis de estresse, sem muitas alterações significativas no mosto, demonstrando assim ser uma alternativa viável durante a escolha de cepas para a fermentação comercial.

Tais características podem ser observadas em leveduras *Kveik*, originais do norte da Europa, que são cepas híbridas de *S. cerevisiae* e *S. uvarum*, capazes de fermentar em grandes faixas de temperatura sem que ocorra grandes alteração aromáticas na bebida por não liberarem subprodutos indesejáveis.

Leveduras híbridas podem ser produzidas a partir de cepas já domesticadas, em

laboratórios comerciais, facilitando assim o acesso de produtores de cerveja, mas também podem ser isoladas do meio ambiente, por meio de técnicas de fácil execução.

Figura 2 - imagem abaixo representa cervejas do tipo ALE.



Fonte: Pixabay

Figura 3 - Imagem abaixo representa cervejas do tipo LAGER

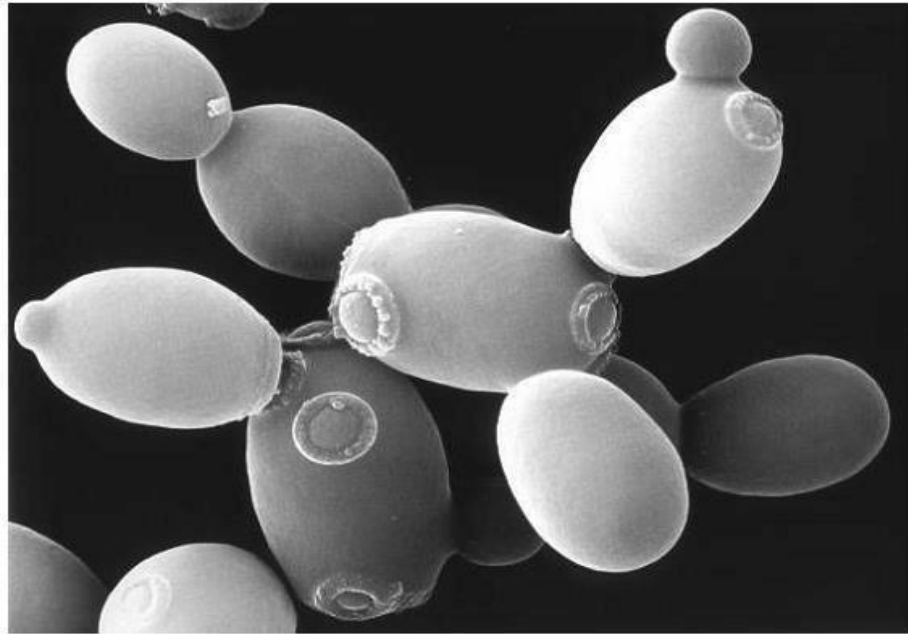


Fonte: Jornal DCI

As Figuras 4 e 5 apresentam cepas de diferentes gêneros de *Saccharomyces* utilizadas na fermentação do mosto, sendo *Saccharomyces cerevisiae* a cepa mais usual em cervejas

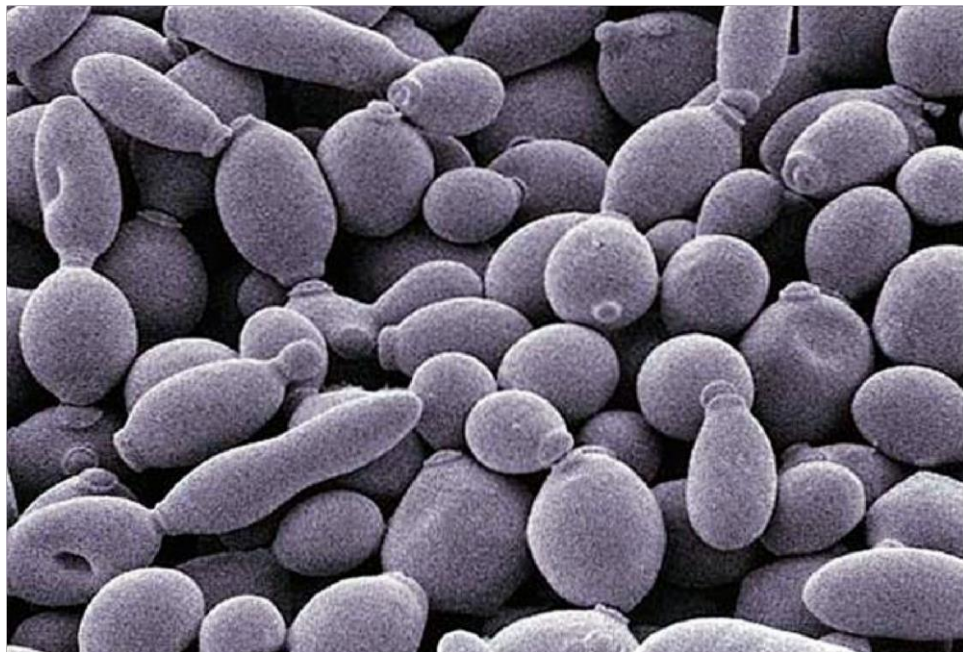
ALE e a espécie *Saccharomyces uvarum* mais aplicada em cervejas LAGER

Figura 4 - Leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae*



Fonte: Researchgate

Figura 5 - Leveduras da espécie *Saccharomyces uvarum*



Fonte: Globalstylus

Durante a produção de cerveja o custo das leveduras corresponde a 30% do valor dos insumos utilizados. As leveduras são importadas de países como Alemanha, Inglaterra, Austrália, Estados Unidos e Bélgica, países que apresentam forte tradição cervejeira e com estilos já consolidados. As leveduras podem ser utilizadas até no máximo 5 a 6 vezes, pois as células podem começar a sofrer mutações, não exercendo assim suas funções adequadamente.

3.2 Gêneros de leveduras e suas aplicações

É possível observar que 80% das espécies de leveduras selvagens catalogadas são do gênero *Saccharomyces*. O gênero *Saccharomyces* é utilizado nos processos industriais e artesanais para a fabricação de cerveja, ressalta-se também que cada espécie diferente de levedura utilizada produz fatores sensoriais diferentes, isso devido aos processos metabólicos que possui (ELEMENTOS BIOTECNOLÓGICOS FUNDAMENTAIS NO PROCESSO CERVEJEIRO, 2006).

Com os avanços da biotecnologia o uso de leveduras selvagens vem ganhando novos setores, como citado por Meurer *et al.* (2008) e cada vez mais destacando seu potencial e sua importância econômica. Com novas pesquisas sendo realizadas é possível notar que o uso de leveduras selvagens se torna altamente viável e com boa aceitação pelos consumidores. O quadro 1 sintetiza os principais micro-organismos selvagens utilizados para produção alcoólica, suas vantagens e desvantagens.

Quadro 1 - Síntese dos trabalhos relacionados às leveduras selvagens utilizadas na produção de vinho e cerveja.

AUTOR(ES)	ESPÉCIE	VANTAGENS	DESVANTAGENS
Couto <i>et al.</i> (2011)	<i>Pichia pijperi</i>	Não prejudicou o processo de fermentação	Liberação de sulfetos de hidrogênio.
Couto <i>et al.</i> (2011)	<i>Candida valida</i>	Torna a bebida mais atraente em aroma e paladar.	Sem utilização no mercado não possuindo demanda comercial.
Oliveira (2011)	<i>Saccharomyces uvarum</i>	Produz maior complexidade de aromas e sabores	Diminuição metabólica em temperaturas baixas.
Oliveira (2011)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Deixa a cerveja mais leve e seca, com teor alcoólico menor	Em temperaturas mais elevadas produz taninos e ésteres indesejáveis.
Garcia (2017)	<i>Saccharomyces pastorianus</i>	Possui grande utilização em produção de cervejas LAGER	Não possui utilização no mercado brasileiro devido a difícil aquisição.
Gomes (2010)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> variedade bayanus	Alta tolerância a elevados níveis de álcool, podendo deixar a cerveja mais alcoólica.	Utilizada na produção de hidroméis e vinhos, porém, baixa utilização na fabricação de cervejas.
Preiss (2018)	Híbrido de <i>S. cerevisiae</i> e <i>S. uvarum</i>	elevada produção de ésteres, deixando aroma cítrico e mais frutado, com grande resistência a várias constantes de temperaturas.	Alto custo no mercado encarecendo a produção e venda.

Fonte: os autores

3.3 Leveduras selvagens e o mercado nacional

A demanda por novas receitas de cerveja, com aromas e sabores mais complexos, pelo público consumidor e a grande procura por produtos que apresentem novas ideias, vêm

fazendo com que o mercado cervejeiro internacional busque por novas cepas de leveduras capazes de suprir estas necessidades. Desta forma, micro cervejarias começam a desenvolver suas próprias leveduras e assim, as etapas de prospecção e desenvolvimento dos microorganismos assumem grande importância.

Atualmente não é possível calcular quanto a utilização de cepas selvagens poderia reduzir em porcentagens o custo final da cerveja e reduzir a dependência da importação desta matéria-prima. Contudo valorizando o potencial da biodiversidade brasileira e a nacionalização dos produtos, as taxas de produção tendem a cair consideravelmente.

Pequenas produções internacionais de cervejas do estilo farm Ale, como a Sahti, tradicionalmente produzidas com bagas de juniperos, são originalmente feitas com leveduras selvagens, cultivadas para a fabricação de pães, que são muito comuns em países europeus e no norte dos Estados Unidos. porém não foram encontrados dados que demonstrem a utilização de leveduras selvagens para produção de cervejas artesanais no mercado brasileiro, indicando um mercado potencial.

Pesquisas envolvendo leveduras selvagens nacionais demonstram cepas com grande potencial fermentativo para a produção de cerveja. Além de ser facilmente prospectadas em ambientes naturais por todo país, possuem grande aceitação pelo público, devido as peculiaridades deixadas no mosto após a fermentação.

4 CONCLUSÃO

Com o grande aumento de micro e pequenas cervejarias no mercado nacional, a demanda por insumos mais baratos e mais eficientes vem sofrendo um grande aumento, o que tem incentivado cada vez mais o desenvolvimento de novas culturas de leveduras para a fermentação de mosto cervejeiro.

As leveduras possuem papel de suma importância durante a fabricação de cervejas artesanais pois, devido aos seus processos metabólicos, a bebida ganha caráter alcoólico e notas sensoriais que alteram drasticamente a qualidade do produto final.

Durante o processo de fermentação as leveduras podem produzir substâncias que acrescentam sabores e aromas à cerveja, mas para que tais aromas e sabores sejam adicionados de forma desejável, algumas variáveis devem ser controladas cautelosamente, como a temperatura e o pH.

Porém, para muitas cervejarias de pequena escala o controle de tais variáveis pode exigir um investimento muito alto em equipamentos, o que pode alterar a qualidade dos lotes produzidos.

Por outro lado, com os avanços biotecnológicos, o mercado cervejeiro vem ganhando alternativas que podem diminuir os custos em equipamentos durante a produção. Entre tais alternativas estão as cepas de leveduras que se demonstram capazes de fermentar em diferentes faixas de temperaturas sem que ocorra a alteração dos padrões sensoriais de determinada receita.

Desta forma, com o desenvolvimento de novas cepas de leveduras capazes de fermentar sem o controle rigoroso de temperatura e ainda mantendo as características desejadas da receita, muitos produtores podem optar pela sua compra, diminuindo assim seus custos durante a produção.

O Brasil possui uma grande biodiversidade na micro fauna, possibilitando assim o desenvolvimento de diversas culturas e linhagens de leveduras com capacidade de manter tais características fermentáveis, podendo assim fornecer ao mercado uma gama de diversas possibilidades para reduzir os custos na produção de cerveja sem que os produtores realizem grandes investimentos.

REFERÊNCIAS

- AREF, Rasha. **Scanning electron microscopy image of Saccharomyces cerevisiae. The budding yeast cells are visible. Scars of early birth of the budding yeast could be recognized.** 2014. Tese (Doutorado), Universidade de Heidelberg Ruprecht Karl, Alemanha, 2014. Disponível em: https://www.researchgate.net/figure/Scanning-electron-microscopy-image-of-Saccharomyces-cerevisiae-The-budding-yeast-cells_fig1_308144762. Acesso em: 09 nov. 2020.
- BORTOLI, Daiane A. da S. *et al.* Leveduras e produção de cervejas: revisão. **Bioenergia em revista: diálogos**, [s.l.], v.3, n. 1, p. 45-58, jan./jun. 2013.
- CANALI, Maria Carolina. **Prospecção de leveduras para a produção de biocombustíveis: estudo dos gêneros Aureobasidium e Meyerozyma.** 2015. Trabalho de conclusão de curso (Graduação) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2015. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/131841>. Acesso em: 09 nov. 2020.
- CARVALHO, Irineide Teixeira de. **Microbiologia básica.** Recife: Escola Técnica Aberta do Brasil, 2010. Disponível em: http://www.proedu.rnp.br/bitstream/handle/123456789/362/Microb_Basica%20%281%29.pdf?sequen%20ce=1&isAllowed=y. Acesso em: 05 nov. 2020.
- COSTA, Pedro Sgobbi Paranhos da. **Estudo da fermentação de cervejas ALE E LAGER.** 2019. Trabalho e Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas, 2019. Disponível em: <http://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/27832/4/EstudoFermenta%20c3%a7%20c3%a3oCervejas.pdf>. Acesso em: 07 set. 2020.
- COUTO, Aline Bravo Barbosa *et al.* Elaboração de vinho cultura mista de leveduras não Saccharomyces isoladas de jaca (*Arthocarpus heterophyllus* LAM) e *Saccharomyces cerevisiae*: avaliações química e sensorial. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Curitiba, v. 5, n. 2, p. 500-515, 11 dez. 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3895/s1981-36862011000200002>. Acesso em: 30 ago. 2020.
- CARVALHO, Giovani Brandão Mafra de; BENTO, Camila Vieira; SILVA, João Batista de Almeida. Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 1ª parte as leveduras. **Revista Analytica**, [s.l.], n. 25, p. 36-42, out./nov. 2006. Disponível em: http://bizuando.com/material-apoio/processosqi2/Artigo_Analitica_1_As_Leveduras.pdf. Acesso em: 09 nov. 2020.
- GABRIEL, Afra Vital Matos Dias *et al.* Effect of the spontaneous fermentation and the ageing on the chemo-sensory quality of Brazilian organic cachaça. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 5, p. 918-925, May 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782012000500026&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 30 ago. 2020.
- GARCIA, Manuel Mantua Esteves. **Produção de cerveja: utilização de estirpes não-convencionais em co-fermentação com Saccharomyces para potenciação do perfil sensorial de diversos tipos de cerveja.** Lisboa: ISA, 2017. Dissertação (Mestrado). Universidade de Lisboa, 2017. Disponível em: <https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/13875>. Acesso em 30 ago. 2020.

GOMES, Teresa. **Produção de Hidromel: efeito das condições de fermentação**. 2010. Dissertação (Mestrado). Instituto Politécnico de Bragança, Portugal, 2010. Disponível em: <https://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/5900>. Acesso em: 02 nov. 2020

HEINZ, Otto Lucas. **Isolamento de leveduras de amora-preta (Rubus sp.) visando fermentação alcoólica**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). Universidade Tecnológica Federal do Paraná Pato Branco. 2014. Disponível em: <http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/2194> . Acesso em: 01 nov 2020.

LIMBERGER, Silvia Cristina. O setor cervejeiro: gêneses e evolução. **Cadernau** - Cadernos do Núcleo de Análises Urbanas, Rio Grande, v. 1, n. 6, p. 1-17, ago. 2013. Disponível em: <https://periodicos.furg.br/cnau/article/view/4769/2970>. Acesso em: 13 set. 2020

LOPES, Thais. **Isolamento e identificação de leveduras selvagens de citrus reticulata com potencial para a fermentação de cervejas**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Curso de Bacharelado em Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/170115>. Acesso em 29 out 2020.

MAFRA, Erich. **Tipos de cervejas artesanais: guia completo para iniciantes**. 2020. Disponível em: <https://www.dci.com.br/dci-mais/vinhos-e-bebidas/cafe-e-cerveja/tipos-de-cervejas-artesanais-guiacompleto-para-iniciantes/7291/>. Acesso em: 09 nov. 2020.

MEGA, Jéssica Francieli; NEVES, Etney; ANDRADE, Cristiano José de. A PRODUÇÃO DA CERVEJA NO BRASIL. **Revista Citino**, Barra dos Bugres, v. 1, n. 1, p. 34-42, dez. 2011. Disponível em: <https://www.hestia.org.br/wp-content/uploads/2012/07/CITINOAno1V01N1Port04.pdf>. Acesso em: 07 set. 2020.

MEURER, Fábio *et al.* Utilização de levedura spray dried na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 22, p. 479-484, 09 maio 2008. Disponível em: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/2995/2117>. Acesso em: 30 ago. 2020

OHARA, Andre. **Isolamento e seleção de leveduras silvestres de biomas do Estado de São Paulo com potencial para produção de lipase e vitaminas do complexo B**. 2014. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP. Disponível em: <http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/256642>. Acesso em: 24 out. 2020.

OLIVEIRA, Nayara Aline Muniz de. **Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja**. 2011. Monografia (Especialização) - Curso de Pós-Graduação em Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas - ICB, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUOS-99VHHA/1/195.pdf>. Acesso em: 07 set. 2020.

OLIVEIRA, Rodrigo Hipólito de Azevedo. **Estudo dos processos de sacarificação, fermentação e destilação de cascas e pontas de mandioca no processo de obtenção de aguardente**. In: XII Seminário de Iniciação Científica. Universidade Federal de Uberlândia MG, 2008. Disponível em: <https://docplayer.com.br/22128465-Estudo-dos-processos-de-sacarificacao-fermentacao-e-destilacaode-cascas-e-pontas-de-mandioca-no-processo-de->

obtencao-de-aguardente.html. Acesso em: 29 out 2020.

PINTO, Fernanda Otesbelgue *et al.* Isolamento, seleção e caracterização de leveduras e selvagens com potencial para a produção de cerveja. In: IX SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA APLICADA, 2016, Porto Alegre. **Resumos [...]**. Rio Grande do Sul: Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, 2016. p. 23-25. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/resumossbma/ocs/index.php/resumossbma/resumosIXSBMA/paper/view/132/168>. Acesso em: 27 out 2020.

PREISS R, *et al.* Traditional Norwegian Kveik Are a Genetically Distinct Group of Domesticated *Saccharomyces cerevisiae* Brewing Yeasts. **Front Microbiol.**, [s.l.], v. 12, n. 9, p. 2137, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30258422/>. Acesso em 29 out 2020.

SANTOS, S. P. **Os primórdios da cerveja no Brasil**. 2. ed. Cotia, São Paulo: Ateliê Editorial, 2004. Disponível em: <https://bit.ly/32UtJld> . Acesso em: 09 nov. 2020.

SILVA, Edilsa Rosa; SOUZA, Aparecida de Souza. Introdução ao estudo da microbiologia: teoria e prática. 1. ed. Brasília-DF: Editora IFB, 2013.

TELINI, Bianca de Paula. **Novas cepas de levedura geradas por hibridização interespecífica entre *Saccharomyces cerevisiae* de origem belga e *Saccharomyces kudriavzevii* e sua potencial aplicação na indústria cervejeira**. 2019. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pósgraduação em Biologia Celular e Molecular. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/212884/001110867.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 7 set. 2020.

TOLEDO, A. L.; SILVEIRA, P. M.; CAPUCI, A. P. S. Produção de cerveja artesanal. In: II Encontro de Desenvolvimento de Processos Agroindustriais. 2018. Uberaba. **Resumos [...]**. Universidade de Uberaba (Uniuube). 2018. Disponível em: <https://repositorio.uniube.br/handle/123456789/902>. Acesso em: 09 nov. 2020

TORRES, Fernando Areripe.; MORAES, Lidia Maria Pepe de; Proteínas Recombinantes Produzidas em Leveduras: considerações sobre o uso de leveduras para a expressão de proteínas de interesse econômico. **Biociência, Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 2, n. 12, p. 20-22, jan/fev. 2000. Disponível em: <https://www.yumpu.com/pt/document/read/12838202/proteinas-recombinantesproduzidas-em-leveduras-biociencia>. Acesso em: 15 out. 2020.

TRAMA, Bianca. **Prospecção de leveduras de compostagem tolerantes à disruptores endócrinos inorgânicos**. 2013. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Diadema, 2013. Disponível em: <https://repositorio.unifesp.br/handle/11600/46327/restricted-resource?bitstreamId=40925>. Acesso em: 09 nov. 2020

UNA LEVADURA QUE TRANSFORMARÁ LA ENOLOGÍA. BODEGAS MURVIEDRO, VALENCIA. Valencia, Es: Globalstylus, 2013. Disponível em: <https://globalstylus.com/una-levadura-que-transformara-la-enologia-bodegas-murviedro-valencia/>. Acesso em: 09 nov. 2020.