

## USO DE MIX DE LEVEDURAS NA FERMENTAÇÃO, VISANDO PRODUÇÃO DE CERVEJAS ARTESANAIS “*low carb*”

Maria Eduarda de Lima<sup>1</sup>  
Gisele Gonçalves Bortoleto<sup>2</sup>  
Daniela Defavari do Nascimento<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Aluna Fatec Piracicaba; e-mail: maria.lima52@fatec.sp.gov.br

<sup>2</sup>Coorientadora; Professora Fatec Piracicaba; e-mail: gisele.bortoleto@fatec.sp.gov.br

<sup>3</sup>Orientadora; Professora Fatec Piracicaba; e-mail: daniela.nascimento01@fatec.sp.gov.br

**Área do conhecimento:** 2.12.02.02-8

**Palavras-chave:** Fermentação. Açúcares. Biotecnologia.

### INTRODUÇÃO

A produção de cerveja é um processo biotecnológico, constituído por três fases essenciais: fabricação do mosto; fermentação alcoólica e maturação. A fermentação é uma das fases mais importantes do processo de produção de cerveja, pois é onde as leveduras transformam os açúcares do mosto em álcool e dióxido de carbono. Geralmente, as leveduras utilizadas na produção de cerveja metabolizam glicose, frutose, maltose e maltotriose, sendo que as dextrinas são utilizadas apenas por *S. diastaticus*, uma variedade de *S. cerevisiae* (RUSSEL, 1994).

A escolha das leveduras também possui um grau de importância para a qualidade da cerveja e com a expansão do comércio de cervejas artesanais, a demanda na diversificação de cultura de inóculo aumentou para obter novas características que possa favorecer o produto, sendo assim, podemos dizer que com o isolamento das leveduras selvagens será possível produzir cervejas artesanais com mais complexidade no aroma e sabor.

### OBJETIVOS

Avaliar o desempenho de mix de leveduras selvagens durante a fermentação através de análises laboratoriais, onde, por meio do método espectrofotométrico foi monitorada a concentração de açúcares redutores pelo ácido 3,5- dinitrosalicílico.

### METODOLOGIA

A produção das cervejas foi realizada no laboratório de Biotecnologia na Fatec- Faculdade de Tecnologia de Piracicaba “Dep. Roque Trevisan”. As fermentações foram realizada em frascos Erlenmeyer com 125 mL de mosto, fechados com rolha de silicone e filtro micropore para eliminação do CO<sub>2</sub> produzido, com a duração de 7 dias, mais 14 dias de maturação.

Foram analisadas inicialmente 7 amostras de leveduras e 6 mix de leveduras em duas variedades de mosto cervejeiro do tipo ALE (Witbier e American IPA), totalizando 27 amostras, com as seguintes denominações: Cat 1; Munich; Rod; S33; SBO Winton; T58; WB06; Cat 1 +Rod; Munich +Rod; S33 +Rod; SOB +Rod; T58 +Rod e; WB06 +Rod. Após resultados iniciais, novas análises foram realizadas com as leveduras que obtiveram melhor desempenho no consumo de glicose, assim mais 6 amostras com 3 novos mix para cada mosto cervejeiro foi testado.

A determinação de açúcares redutores foi feita através do ácido 3,5-dinitrosalicílico (VASCONCELOS et al. 2013)

A viabilidade celular é um parâmetro relevante no controle da fermentação alcoólica. Quanto maior for o valor da viabilidade celular maior será o desempenho do processo.

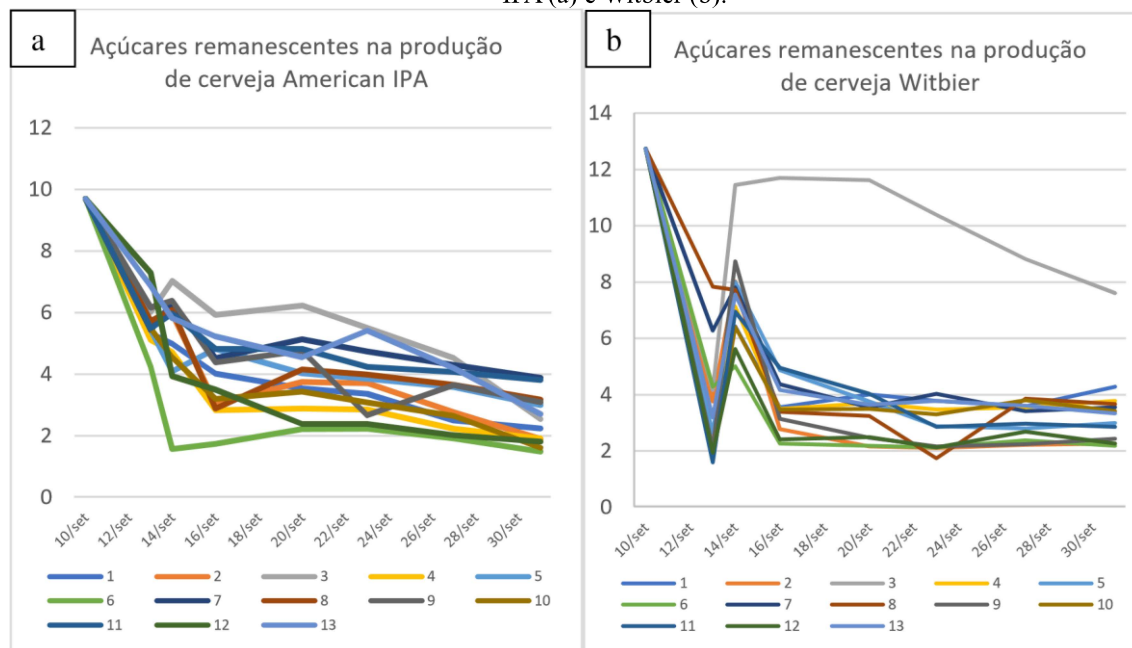
Variações da temperatura de fermentação reduzem a viabilidade celular, em decorrência da elevação das taxas de produção e do acúmulo de etanol no meio e nas células (CYSEWSKI; WILKE, 1977). A determinação da viabilidade celular das leveduras foi realizada através da contagem manual em câmara de Neubauer, em microscópio óptico (CECCATO-ANTONINI, 2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Antes de iniciar as fermentações dos mostos para os testes de produção de cerveja “low carb”, um experimento prévio foi estabelecido visando determinar a concentração de levedura a ser inoculada em 125mL de mosto. Para isso, leveduras comerciais foram adquiridas em embalagens de 11,5g com conteúdo de células adequado para fermentar ~20L de mosto. Aliquotas de 0,1g foram devidamente pesadas em balança analítica e diluídas em 10mL de solução aquosa de NaCl 0,9%. Esta solução celular foi então submetida a leitura de densidade óptica a 600nm, em espectrofotômetro (diluição 1:20) e a contagem das células em câmara de Neubauer através de microscópio óptico. A partir das médias dos valores obtidos das repetições e amostras analisadas, foi possível estabelecer a densidade óptica ideal a ser atingida em cada inóculo a ser adicionado ao mosto a ser fermentado, mantendo-se assim uma padronização tanto para as leveduras comerciais quanto para as demais leveduras (industriais e indígenas) que foram multiplicadas no laboratório.

Os resultados obtidos na análise de determinação de açúcares redutores pelo ácido 3,5dinitrosalicílico nos mostos cervejeiro American IPA e Witbier encontram-se na Figura 1. Os gráficos apresentam o consumo dos açúcares redutores obtido por metodologia DNS durante o período da fermentação e maturação das cervejas.

FIGURA 1. Consumo de açúcares redutores por metodologia DNS durante a fermentação no mosto American IPA (a) e Witbier (b).



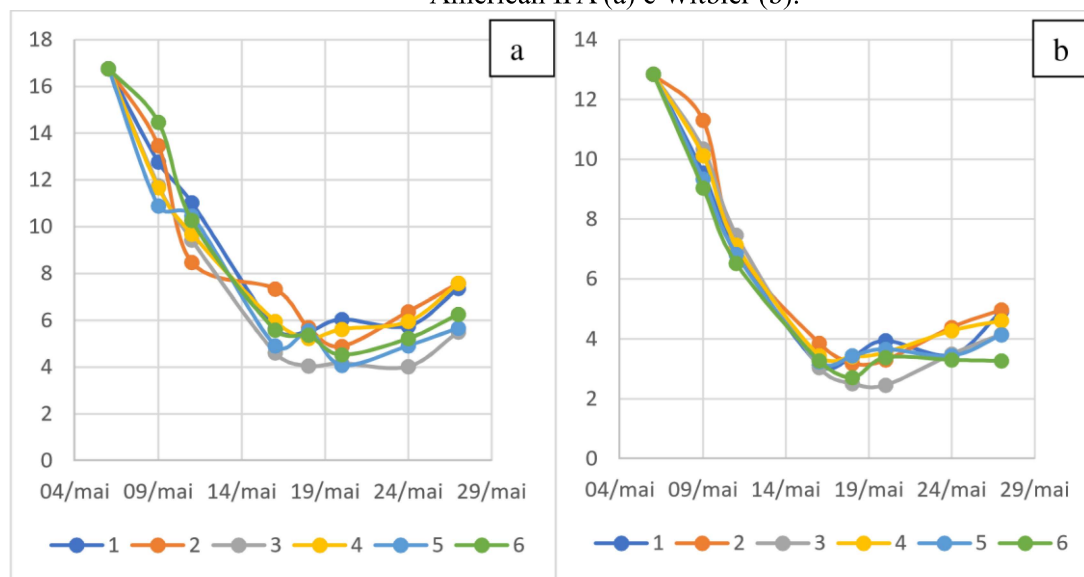
Fonte: Elaboração própria

A amostra 6, onde continha a levedura T58, apresentou o melhor resultado em relação ao consumo de açúcares, na sequência a amostra 10 com o mix de leveduras SBO+Rhodotorula, também apresentou resultado eficaz no consumo de glicose no mosto American IPA (Figura 1a). Com o mosto Witbier (Figura 1b), os resultados das análises foram mais satisfatórios, onde a amostra 6 (levedura T58) e a amostra 12 (mix T58+Rhodotorula) apontam o melhor resultado durante a fermentação, em seguida as amostras 9 (mix Munich+Rhodotorula), 11 (mix SBO+Rhodotorula) e, 5 (levedura SBO) também expressam bons resultados. Antes de submeter as leveduras à fermentação foi calculado a porcentagem das células vivas para poder acompanhar seu desempenho. Nesse caso, foi possível observar que a

viabilidade celular estava na média de 96%. Para a continuidade deste projeto, as leveduras que apresentaram os melhores resultados quanto ao consumo dos açúcares do mosto, foram utilizadas em novos mix com leveduras industriais (cat1 - FT280L e FT858). Nesse caso, avaliou-se 3 amostras de leveduras isoladas (1. cat1 - FT280L, 2. FT858 e 3. T58) e em conjunto com outras (mix: 4. FT858+Cat1, 5. T58+Cat1 e 6. T58+FT858).

Amostra 3 atingiu maior consumo de açúcares redutores no mosto cervejeiro American IPA, na continuidade o mix da amostra 5 também obteve um resultado considerável em relação ao consumo de açúcares (Figura 2a). No mosto Witbier (Figura 2b), a amostra 6 destacou-se com o melhor consumo de glicose dentre todas as amostras inclusive comparando-se aos resultados do mosto American IPA.

FIGURA 2. Consumo de açúcares redutores por metodologia DNS durante a fermentação no mostos American IPA (a) e Witbier (b).



Fonte: Elaboração própria.

A porcentagem das células em atividade na população de leveduras antes de passarem pelo período de fermentação e maturação, estava na média de 98%.

Neste segundo ensaio, onde se produziu mais 12 amostras de cervejas, se utilizou a levedura com melhor resultado no primeiro ensaio (T58), juntamente com duas outras cepas selecionadas para produção de bioetanol, a FT280L (CAT-1) e a FT858, gentilmente fornecidas pela Fermentec- Tecnologias em Açúcar e Álcool, que consomem glicose rapidamente e também se mostram adequada para produção de *whisky* escocês (AMORIM NETO et al., 2009), embora Godoy (2015) tenha sugerido que a Cat-1 não seja eficiente para fermentar maltotriose.

Pode-se afirmar que o *mix* constituído de leveduras industriais para produção de etanol (cat1 ou FT858) acrescido de levedura cervejeira se mostrou mais efetivo para a produção de cervejas tipo witbier [amostra 6 (T58+FT858)] e American IPA [amostra 5 (T58+cat1)]. Entretanto, é importante salientar que estes procedimentos todos foram realizados em condições de laboratório com volume de 125mL. Sabemos que o mesmo comportamento nem sempre ocorre em escala maior (20L por exemplo). De qualquer forma, já é possível indicar as melhores combinações de leveduras e mosto para a obtenção de cerveja “*low carb*”.

## CONCLUSÃO

Foi possível observar diferenças nos conteúdos finais de açúcares redutores conforme a levedura e mosto utilizado. Sendo que o mosto witbier, a levedura cervejeira T58 e o mix com a industrial FT858 se destacaram neste processo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM NETO, H.B. DE; YOHANNAN, B.K.; BRINGHURST, T.A.; BROSNAN, J. M.; PEARSON, S. Y.; WALKER, J. W.; WALKER, G. M. Evaluation of a Brazilian Fuel Alcohol Yeast Strain for Scotch Whisky Fermentations. J. Inst. Brew. Vol. 115, n.3, p.198–207. 2009.

CECCATO-ANTONINI, S. R. **Microbiologia da fermentação alcoólica**: a importância do monitoramento microbiológico em destilarias. São Carlos: EdUFSCar, 2011. (Coleção UABUFCSar) MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Gabinete da Ministra. **Instrução Normativa Nº 65, de 10 de dezembro de 2019**. Estabelece os padrões de identidade e qualidade para os produtos de cervejaria. Disponível em:

<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-65-de-10-de-dezembro-de2019-232666262>. Acesso em: fevereiro de 2022.

VASCONCELOS, N. M.; PINTO, G. A. S.; ARAGÃO, F. A. S. Determinação de açúcares redutores pelo ácido 3, 5-dinitrosalicílico: histórico do desenvolvimento do método e estabelecimento de um protocolo para o laboratório de bioprocessos. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPQ pela disponibilização da bolsa PIBITI para realização deste trabalho, bem como à Fermentec pelo fornecimento de leveduras.