

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA

BYANKA EMILLY DE OLIVEIRA SANTOS

IMPLEMENTAÇÃO DE PROCEDIMENTOS E APRIMORAMENTO DA EFICIÊNCIA NO ENVIO DE CEPAS DE LEVEDURA ÀS CERVEJARIAS

Recife

BYANKA EMILLY DE OLIVEIRA SANTOS

IMPLEMENTAÇÃO DE PROCEDIMENTOS E APRIMORAMENTO DA EFICIÊNCIA NO ENVIO DE CEPAS DE LEVEDURA ÀS CERVEJARIAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Engenharia Química.

Orientadora: Maria de Los Angeles Perez

Fernandez Palha

Recife

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Santos, Byanka Emilly de Oliveira.

implementação de procedimentos e aprimoramento da eficiência no envio de cepas de levedura às cervejarias. / Byanka Emilly de Oliveira Santos. - Recife, 2024.

63p: il., tab.

Orientador(a): Maria de Los Angeles Perez Fernandez Palha Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, Engenharia Química -Bacharelado, 2024.

Inclui referências.

1. Cervejarias. 2. Cepas. 3. Compactação. 4. Fermentação. 5. Levedura. I. Fernandez Palha, Maria de Los Angeles Perez. (Orientação). II. Título.

660 CDD (22.ed.)

BYANKA EMILLY DE OLIVEIRA SANTOS

IMPLEMENTAÇÃO DE PROCEDIMENTOS E APRIMORAMENTO DA EFICIÊNCIA NO ENVIO DE CEPAS DE LEVEDURA ÀS CERVEJARIAS

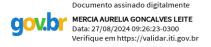
Trabalho de conclusão de curso apresentado à coordenação do curso de Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para a obtenção do grau de Bacharel em Engenharia Química

Aprovado em: 20/08/2024.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria de Los Angeles Perez Fernandez Palha (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Sara Horácio de Oliveira Maciel (Examinador Interno) Universidade Federal de Pernambuco



Profa. Dra. Mércia Aurélia Gonçalves Leite (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho a Kátia Patrícia, minha madrinha, que plantou em mim o sonho da graduação quando eu não tinha nem idade para saber o que era uma universidade, agora realizo na terra o que ela com certeza comemora no céu.

AGRADECIMENTOS

À Deus, origem de tudo, que com sua infinita bondade me deu sorte e circunstâncias para que eu pudesse aproveitar e estar onde estou hoje. À santíssima virgem, que não cessa de interceder e me amparar a cada momento de angústia e aflição.

Aos meus pais, meus primeiros amigos, que regaram com suor e lágrimas o que colho agora com conforto e sorrisos. Aos meus irmãos que nos momentos de tristeza continuavam a me incentivar a sempre seguir em frente.

Minha tia Uva que me coloca em todas as suas orações e faz questão de me lembrar o quanto sou importante para ela. Minha tia Nina que por muito tempo me levava e buscava na porta da escola, que era na esquina de casa, e partiu sem saber onde consegui chegar.

À professora orientadora Dra. Maria de Los Angeles Perez Fernandez Palha, mulher que me inspira, pelo acolhimento, paciência e carinho de sempre.

Ao meu namorado, que sempre está pronto para me dar apoio em todas as áreas da minha vida.

À Universidade Federal de Pernambuco e a todos os seus docentes que ajudaram na formação acadêmica.

À empresa que deu minha primeira oportunidade de estágio e agora emprego, e as pessoas envolvidas na minha trajetória.

RESUMO

A cerveja é tradição em diversas culturas e comunidades desde a antiguidade, com o crescimento do consumo ao passar dos anos, diversos estilos tomam cada vez mais espaço no paladar dos consumidores, criando assim a necessidade de ampliação no portifólio de marcas que agradem os mais variados tipos de pessoas. Nesse contexto, aprender a lidar com o comportamento das diferentes cepas de levedura é primordial para produzir uma fermentação adequada e a produção de uma cerveja de qualidade. Assim, este trabalho teve como objetivo otimizar a eficiência e o processo de envio de cepas de levedura para diversas cervejarias, focando na adequação de volume e peso das remessas, garantindo que cheguem com as especificações necessárias para serem utilizadas. Quatro cepas foram analisadas quanto a compactação e contagem de células. Uma cepa específica não apresentava resultados satisfatórios de compactação logo ao início do envase. Para resolver este problema foi realizado um estudo detalhado que levou a inclusão do aumento do volume utilizado no reator, do tempo de residência da cepa antes do envase nesse tanque, a adição de antiespumante no processo e a capacitação da operação para o reconhecimento da singularidade de cada estirpe de levedura. Estas medidas permitiram ajustes adequados durante o enchimento das bombonas, o que resultou em uma melhora significativa na compactação das cepas enviadas.

Palavras-chave: Cervejarias. Cepas. Compactação. Fermentação. Levedura.

ABSTRACT

Beer has been a tradition in different cultures and communities since antiquity, with the growth in consumption over the years, different styles are taking up more and more space in consumers' palates, thus creating the need to expand the portfolio of brands that appeal to a wide variety of people. In this context, learning to deal with the behavior of different yeast strains is essential to delivering adequate fermentation and producing quality beer. Therefore, this work aimed to optimize the efficiency and process of shipping yeast strains to various breweries, focusing on adjusting the volume and weight of shipments, ensuring that they arrive with the necessary specifications for use. Four strains were analyzed and, based on the observation of their profile regarding compaction and cell count, a specific strain did not present satisfactory compaction results at the beginning of packaging. To solve this problem, a detailed study was carried out, leading to the inclusion of an increase in the volume of the propagation tank, a change in the storage time of the strain before packaging, the addition of an anti-foaming agent and the training of the operation to recognize the uniqueness of each yeast strain. These measures allowed appropriate adjustments during filling of the drums, which resulted in a significant improvement in the compaction of the shipped strains.

Keywords: Breweries. Compacting. Fermentation. Strains. Yeast.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Banquete com figuras reunidas utilizando canudos para beber cerveja em jarros	17	
Figura 2:	Principais componentes da cerveja		
Figura 3:	Endosperma contendo amido		
Figura 4:	Estrutura do cone de lúpulo		
Figura 5:	Visão microscópica de leveduras de cultivo	22	
	Aproveitamento da Rafinose e Melibiose pela Saccharomyces	24	
	carlsbergensis diferentemente da Saccharomyces cerevisiae que		
Figura 6:	não possui a melibiase		
Figura 7:	Sequência de reações enzimáticas conduzidas por Sacharomyces	25	
Figura 8:	Exemplo da análise de compactação 2		
Figura 9:	Ciclo PDCA para gerenciamento de projetos 2		
Figura 10:	Preparo do inóculo para processo fermentativo 3		
Figura 11:	pHmetro de bancada	34	
	Preparo da amostra para determinação da viabilidade, células totais	36	
Figura 12:	e mortas no Cellometer		
	Amostras de uma mesma cepa na condição pastosa (a) e como	38	
Figura 13:	fermento em suspensão (b)		
Figura 14:	Massa das bombonas envasadas com a cepa A 4		
Figura 15:	Compactação da cepa A 4		
Figura 16:	Contagem de células da cepa A 4		
Figura 17:	Massa das bombonas envasadas da cepa B durante o estudo	43	
	Compactação analisada da cepa B nos dias 10 e 24 de maio e nos	44	
Figura 18:	dias 07 e 27 de junho		
	Contagem de células da cepa B nos dias 10 e 24 de maio e nos dias	45	
Figura 19:	07 e 27 de junho		
Figura 20:	Massa apresentada pelas bombonas analisadas contendo a cepa C. 4		
Figura 21:	Compactação da cepa C durante o acompanhamento		
	Contagem de células da cepa C em cada bombona analisada	48	
Figura 22:	durante os envases acompanhados		
	Massa das bombonas envasada contendo a cepa D antes da	49	
Figura 23:	modificação no processo		

Figura 24:	Compactação da cepa D antes da modificação no processo	
Figura 25:	Contagem de células da cepa D antes da modificação no processo	
Figura 26:	Compactação da cepa D após a modificação no processo 5.	
Figura 27:	7: Contagem de células da cepa D após a modificação no processo	
	Massa das bombonas envasadas da cepa D após a modificação no	54
Figura 28:	processo	

LISTA DE TABELAS

Tabela 1Diferenças entre S. uvarum e S. Cerevisiae

26

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 Resumo dos Resultados por Cepa

38

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 OBJETIVO GERAL	14
1.1.1 Objetivos específicos	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 HISTÓRIA DA CERVEJA1	16
2.2 MERCADO CERVEJEIRO MUNDIAL	17
2.2.1 Mercado cervejeiro no Brasil	18
2.3 PROCESSOS INDUSTRIAIS	18
2.4 MATÉRIAS-PRIMAS	18
2.4.1 Água 1	19
2.4.2 Malte	20
2.4.3 Lúpulo	21
2.4.4 Levedura	22
2.5 FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA2	23
2.6 PROCEDIMENTOS UTILIZADA NO PROCESSO DE PRODUÇÃO E ENVIO DAS CEPAS	26
2.6.1 - Análises de leveduras	26
2.7 GESTÃO DE QUALIDADE2	28
3 MATERIAIS E MÉTODOS	30
3.1 PROPAGAÇÃO DE LEVEDURAS	30
3.2 PROCEDIMENTOS PARA AS LINHAGENS	31
3.2.1 – Procedimentos para as Cepas A e B	32
3.2.2 – Procedimentos específicos para as Cepas C e D	32
3.3 ENVASE DAS CEPAS	32
3.4 ANÁLISES LIBERATÓRIAS	33
3.4.1 pH	33
3.4.2 Compactação do fermento	34
3.4.5 Células mortas e totais	
3.4.5.1 Funcionamento do Cellometer	35
3.4.5.2 Preparo da amostra para introdução no Cellometer	36
3.5 DEFINIÇÃO DE OBJETIVOS E DESENVOLVIMENTO DE PROCEDIMENTOS	37
3.6 TREINAMENTO DA OPERAÇÃO QUANTO AO ENCHIMENTO DA BOMBONA FRENTE ÀS CARACTERÍSTICAS DAS CEPAS E O REGISTRO DE QUALIDADE	L

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1 CEPA A	39
4.2 CEPA B	42
4.3 CEPA C	45
4.4 CEPA D	48
5 CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS	57

1 INTRODUÇÃO

A cerveja, sendo uma das bebidas mais consumidas no mundo, desempenha o papel de movimentar o mercado econômico no cenário mundial, além de estar presente na evolução da sociedade. Sua presença constante em banquetes, festas, comemorações e reuniões familiares a transforma-a em um meio de expressão da identidade de inúmeras comunidades e culturas ao redor do mundo. Paralelamente ao pão, já que possuem os mesmos ingredientes, a cerveja integrou-se aos hábitos alimentares e tradições de diversas civilizações ao longo da história (Silva; Leite; Paula, 2016).

Supostamente, a cerveja teve sua origem de forma acidental, quando o amido presente em cereais e grãos, ao ser exposto à chuva, foi modificado por enzimas e transformado em carboidratos fermentáveis. Acredita-se que a história da cerveja tenha sido desenvolvida em sua grande parte por volta de 5000 a.C., na região da Mesopotâmia, devido à disponibilidade de solo fértil para o cultivo de grãos. Sua etimologia homenageia Ceres a deusa da colheita, uma vez que é oriunda do gaulês cerevisia (Hornsey, 2003).

Segundo a instrução normativa N°65, de 2019 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, cerveja é o resultado da fermentação do mosto de cevada malteada ou extrato de malte, utilizando fermentação cervejeira, após ter passado anteriormente por um processo de cozimento onde foi incluído o lúpulo.

A cerveja está atrás apenas do chá e da água comparada às demais bebidas consumidas no Brasil e no mundo. Está elevada produção, que chegou 188 bilhões de litros em 2018, é justificada pela ligação da bebida aos momentos de lazer (Coelho Neto et al., 2020).

De acordo com o Anuário da Cerveja de 2024, elaborado pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), o setor cervejeiro possui uma relevância histórica significativa para a economia nacional. No Brasil, existe uma cervejaria registrada para cada 109.952 habitantes e, no ano de 2023, foram produzidos mais de 15 bilhões de litros de cerveja (Brasil, 2024).

As cervejas podem ser categorizadas com base em seu teor de extrato, teor alcoólico, tipo de malte e seus métodos de fermentação. O termo ALE é utilizado para descrever as cervejas que passam por um processo chamado de alta fermentação,

no qual as células de levedura são adsorvidas nas bolhas de dióxido de carbono e são levadas à superfície do mosto. Já as do tipo LAGER recebem essa designação quando a levedura empregada no final do processo fermentativo tende a se depositar no fundo do fermentador (Pimenta et al., 2020).

A escolha da levedura a ser aplicada depende das características desejadas para o produto final, a partir disso, o cervejeiro deve fornecer as condições necessárias para saúde e crescimento da célula. Segundo Coelho Neto et al. (2020), é possível correlacionar a conversão de açúcares em etanol e gás carbônico e a baixa produção de compostos indesejados com o desempenho das leveduras.

O gênero Saccharomyces é o mais utilizado na produção de bebidas alcóolicas. Para as do tipo LAGER, a principal levedura utilizada é a Saccharomyces pastorianus, sendo as mais conhecidas e comumente utilizadas, as da espécie Saccharomyces cerevisiae, o teor alcóolico obtido ao fim de fermentações utilizando essas cepas oferecem benefícios significativos quanto a sua termotolerância, adaptação e um maior controle microbiológico (Cazombo; Maeda, 2023).

No processo de fermentação, a transferência do fermento é bastante importante para aumentar a quantidade de levedura. Isso envolve mover a cultura inicial para um novo volume de mosto. Recomenda-se um aumento de volume de cinco a dez vezes entre cada etapa de propagação para otimizar o crescimento celular, embora não seja uma regra estrita. Muitas transferências em volumes pequenos aumentam o risco de contaminação e exigem mais manipulação, enquanto diluições em grandes porções de mosto podem não resultar em ganhos adicionais de levedura. A prática deve considerar a logística de manejo, saúde e eficiência de crescimento, conforme discutido por White e Zainasheff (2020).

White e Zainasheff (2010) informam que para otimizar a recolha de leveduras após a fermentação, é essencial agir rapidamente para evitar que a cepa utilize as reservas de energia da célula. Em fermentadores cilíndrico-cônicos, onde a levedura se acumula no cone, esse processo pode ser acelerado. Recomenda-se recolher a levedura de um a dois dias após o início do resfriamento para obter melhor qualidade. A recolha deve ser feita da parte mais cremosa e menos propensa a mutações, essa parte é composta por células que não decantaram tão rapidamente quanto as do fundo

do cone, nem tão lentamente, quanto as do início do mesmo, essa porção é ideal para reutilização.

A cervejaria X buscou inspiração na trajetória da fusão da Companhia Antarctica Paulista e da Companhia de Bebidas das Américas, a empresa pode observar como essa união resultou na criação da terceira maior indústria cervejeira do mundo, segundo dados da Bohemia Puro Malte (2022).

Além disso, conforme citado por Limberger (2023), enquanto muitas pequenas fábricas sucumbiram às dificuldades, marcas como Brahma e Antarctica não apenas sobreviveram, mas também expandiram seus capitais, tornando-se líderes no mercado. Essa resiliência e capacidade de crescimento em tempos difíceis servem como um exemplo para outras empresas que buscam consolidar sua presença no mercado.

Com a ampliação do portfólio da indústria cervejeira utilizada como base para aplicação desse trabalho, particularmente em segmentos de maior valor, com o intuito de aumentar as opções para os consumidores, cresceu também a demanda por cepas de levedura específicas nas cervejarias para esse contexto cervejeiro.

Diante desse cenário, fez-se necessário buscar uma abordagem diferente da habitual, realizada na Unidade de cultivo e distribuição de fermento, na propagação de leveduras, aplicando metodologias que auxiliassem na identificação e solução das dificuldades observadas ao longo do processo produtivo.

1.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como objetivo geral caracterizar as linhagens de leveduras e otimizar a eficiência no processo de envio as cervejarias da companhia.

1.1.1 Objetivos específicos

- Estabelecer procedimentos detalhados para a compactação e envio de cepas de levedura, garantindo consistência e qualidade nos processos.
- Determinar critérios de controle de qualidade para verificar a viabilidade das cepas de levedura após o transporte, garantindo que atendam aos padrões exigidos para a produção de cerveja de alta qualidade.

- Treinar adequadamente os funcionários responsáveis pelo envase e processo, assegurando que estejam familiarizados com os procedimentos e técnicas recomendadas.
- Exigir dos colaboradores o registro de controle de qualidade para acompanhar cada lote de cepas compactadas, incluindo informações como data de produção, número de lote e resultados de testes de viabilidade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Neste capítulo, serão explorados assuntos pertinentes ao trabalho, com o objetivo de aprofundar a compreensão do mesmo. Isso incluirá uma análise detalhada que abrange desde o panorama econômico da indústria de cerveja até o processo de fermentação alcoólica.

2.1 HISTÓRIA DA CERVEJA

Desde a idade antiga até a contemporaneidade, a cerveja desempenhou um papel significativo na trajetória da humanidade. A região que serviu como o berço da civilização atual, mesopotâmia, também é apontada como o possível local de origem da primeira produção intencional de cerveja. Este marco histórico é atestado por um poema sumério datado de 3900 anos atrás, dedicado à deusa Ninkasi, que oferece a mais antiga receita documentada para a fabricação desta bebida (Hornsey, 2003).

Acredita-se que a geminação de cereais, e um processo de fermentação, convertendo-os em açúcares e, subsequente, produção de álcool por meio da ação de leveduras, tenha sido desencadeada acidentalmente com o auxílio da água da chuva, após a armazenagem de cereais sem cuidado em jarros de barro ou cerâmica. Sendo considerado algo mágico e divino (Gurgel; Cunha, 2017).

Na antiga Babilônia, houve um refinamento significativo dos métodos de produção de malte, estabelecendo as bases para os processos de fabricação de cerveja que perduram até os dias de hoje. Como resultado da crescente popularidade da cerveja, os governantes da época promulgaram legislações que estipulavam especificações relacionadas às matérias-primas empregadas em sua produção (Mosher, 2009).

No Egito, a cerveja também era bastante apreciada, sendo utilizada como moeda de pagamento para obras públicas. Os grãos eram coletados como impostos e redistribuídos como pagamento. De acordo com registros de uma vila próxima ao planalto de Gizé, os trabalhadores eram pagos com três ou quatro bolos de pão e duas canecas contendo cerca de quatro litros de cerveja, a Figura 1 apresenta um banquete onde pessoas bebem cerveja com auxílio de canudos (Standage, 2005).



Figura 1: Banquete com figuras reunidas utilizando canudos para beber cerveja em jarros

Fonte: Standage (2005).

Segundo Morado (2017), após o domínio do império romano a cerveja foi considerada bebida das classes mais pobres, o que até hoje gera discussões comparativas entre ela e o vinho. Apesar disso, regiões onde hoje se encontram Alemanha, Bélgica e ilhas britânicas, localizadas ao norte da Europa, mantiveram seus costumes com a cerveja.

2.2 MERCADO CERVEJEIRO MUNDIAL

A BarthHass Group (2023) diz que a produção mundial de cerveja, no ano de 2022, foi a maior comparada aos três últimos anos, chegando a 1,89 mil milhões de hectolitros, apesar de alguns países da Europa reportarem queda, devido a situação da Ucrânia, no mesmo ano, houve um crescimento de 3 milhões de hL.

O mercado internacional permaneceu em crescimento no ano passado, com um aumento de 4,3% do volume total de produção das 40 maiores cervejarias do mundo, porém destaca-se que esses valores não foram uniformemente distribuídos, mas sim, obtendo um claro domínio das grandes cervejarias, prova disso, que só os quatro primeiros grupos cervejeiros, AB InBev, Heineken, China Res. Snow Breweries e Carlsberg, representam 60% da produção no volume total das 40 maiores cervejarias, segundo levantamento do Barth Hass Group (2023).

2.2.1 Mercado cervejeiro no Brasil

Segundo o levantamento feito no Anuário da Cerveja de 2022, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), até 2022, 1.729 cervejarias foram registradas no Brasil, além de 42.831 produtos em cervejarias, evidenciando a variedade de cervejas no mercado de consumo. A ampliação do mercado brasileiro de exportação de cerveja destaca-se como mais um ponto positivo, o país exportou para 79 países diferentes mais de 200 milhões de kg de cerveja (Brasil, 2023).

As políticas cambiais do Estado brasileiro estão diretamente ligadas ao desenvolvimento da indústria cervejeira, pois, conforme Limberger (2023), a partir disso, os primeiros investimentos em produção de cevada puderam acontecer no início dos anos 50.

2.3 PROCESSOS INDUSTRIAIS

A produção de cerveja envolve sete etapas principais: moagem, mostura, fervura, fermentação, maturação, filtração e envase. Na moagem, o malte e outros cereais são triturados para separar a casca do endosperma, facilitando o contato com a água. Na mostura, o malte triturado é aquecido gradualmente entre 40 e 78 °C, ativando enzimas que transformam o amido em açúcares fermentáveis, esse processo resulta em um líquido açucarado chamado mosto. Durante a fervura do mosto, o líquido é esterilizado e o lúpulo é incorporado, conferindo o sabor definitivo à cerveja. (Coelho Neto et al., 2020).

Para Santos e Ribeiro (2005), antes da fermentação, há duas etapas adicionais: a clarificação e o resfriamento do mosto. Onde, seguindo está ordem, remove-se o trub grosso por decantação hidrodinâmica e resfria-se o mosto para então ser fermentado. A fermentação é dividida em fases aeróbias e anaeróbias, onde leveduras se reproduzem e convertem açúcares em CO₂ e álcool. A maturação é realizada para separar micro-organismos indesejáveis a baixas temperaturas, Após isso a filtração remove as impurezas e proporciona a cerveja a limpidez final. Por fim, o envase completa o processo, assegurando a qualidade do produto final.

2.4 MATÉRIAS-PRIMAS

A fermentação alcoólica do mosto, como é definido no decreto nº 6871, de 4 de junho de 2009, oriundo do malte de cevada e adição de lúpulo, por ação da levedura,

é obtida a cerveja (Brasil, 2009). A Figura 2 apresenta os principais componentes da cerveja.

Segundo Santos e Ribeiro (2005), a principal etapa no processo cervejeiro é a fermentação e dependerá de etapas anteriores para que ela seja efetiva, como justamente o preparo das matérias-primas



Figura 2: Principais componentes da cerveja

Fonte: Rosa; Afonso (2015)

2.4.1 Água

Mais de 80% da cerveja é constituída por água. Ela deve ser potável, insípida inodora, incolor, e normalmente com pH de 6,0 a 6,5, pois é incorporada no produto, utilizada no condicionamento do malte, na moagem, na carga e descarga de produtos em elaboração e ainda é responsável por diversas características da bebida (Santos; Ribeiro, 2005).

Do mesmo modo que a atmosfera influência diretamente nessas características, já que diversos gases são levados a água devido a solubilização da atmosfera, é também destacado a importância do solo nesta interferência, pois a partir dele, diversos íons são dissolvidos na água. Devido a isso, a depender da região são determinados elementos sensoriais distintos às cervejas produzidas em solos com grande quantidade de minerais. Assim surgiram crenças que contavam que algumas

regiões produziriam melhor bebidas do que outras, o que hoje não é uma verdade absoluta, pois com o avanço da tecnologia e domínio de novas técnicas é possível adicionar ou remover íons de minerais na água, moldando-a para um melhor perfil (Mosher, 2009).

2.4.2 Malte

A malteação, processo artificial e controlado de germinação, tem como resultado o malte (Rosa; Afonso, 2015). De acordo com Santos e Ribeiro (2005), o malte é obtido através de algumas etapas, são elas: A limpeza e seleção de grãos de cevada, logo em seguida a embebição, depois a germinação e por fim, a secagem do malte.

Inicialmente, uma triagem deve ser realizada para separar os grãos de palhas, pedras e possíveis impurezas. Devem ser selecionados grãos uniformes, para que posteriormente, ocorra uma germinação uniforme (Santos; Ribeiro, 2005). Diversos grãos que germinam podem ser utilizados na cerveja, como exemplo disso tem-se o arroz, o trigo e o centeio, porém, o mais adotado para tal, é o malte de cevada, já que ele possui um alto teor de amido (Cangussu; Silva; Souza, 2022).

Na embebição do grão, é fornecido água para que ele inicie a germinação, esses grãos, normalmente armazenados em silos que são abastecidos com água, até, pelo menos 45% de umidade relativa m/m (massa/massa) em relação ao seu peso, de maneira a promover a saída do estado de latência dos grãos, dando início ao processo de germinação (Santos; Ribeiro, 2005) fazendo com que sejam ativadas as enzimas que realizam a quebra do amido.

A germinação tem como princípio manter condições controladas de temperatura, oxigênio, umidade e CO₂ (Rosa; Afonso, 2015), e dura, em média 5 a 8 dias até que brotem as raízes embrionárias (Santos; Ribeiro, 2005).

Conforme Pereira (2021), durante a secagem a temperatura é aumentada, as radículas são removidas, originando o malte base, que consiste em um grão com interior com muitas enzimas ativas e abundante em amido. A temperatura que é fornecida ao malte definirá características de aroma, cor e sabor a bebida. Quando os grãos são macerados, o endosperma- parte interna do grão, é exposto (Figura 3), a germinação torna possível justamente a transformação dos amidos e proteínas em açúcares e aminoácidos.

Matriz
Proteica

Parede celular
externa

Proteina de lamela média

Parede celular interna

Figura 3: Endosperma contendo amido

Fonte: Cangussu et al. (2022).

2.4.3 Lúpulo

O *Humulus Lupulus* é uma trepadeira perene de formato cônico como mostrado na Figura 3 que produz flores e é uma das três espécies pertencente ao gênero *Humulus*, utilizado na fabricação de cerveja, onde as substâncias de interesse são as resinas, os óleos essenciais e os polifenóis, encontrados nas flores não fertilizadas das plantas femininas (Durello; Silva; Bogusz, 2019).

Essas plantas, a partir do seu segundo ano, apresentam um conjunto de flores ligadas ao mesmo ramo que são muito conhecidas pelo formato cônico característico com que se agrupam, sendo chamados de cones de lúpulo, na Figura 4 é detalhado a estrutura do cone.

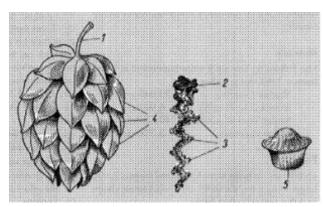


Figura 4: Estrutura do cone de lúpulo

(1) Caule, (2) Talo central, (3) Flores, (4) Brácteas, (5) glândula de lupulina

Fonte: Kunze (2006).

Ainda de acordo com Kunze (2006), especialmente nas cervejas do tipo Pilsen, onde o aroma da flor desempenha um papel fundamental no caráter da bebida, as características do lúpulo possuem extrema importância para a qualidade do produto final, pois as resinas do lúpulo, além de serem responsáveis pelo amargor e estabilidade da espuma, atuam como antisséptico. O lúpulo pode ser dividido em duas variedades, as aromáticas e as de amargor, por possuir maior teor de óleos de lúpulo e menor teor de α-ácidos, as aromáticas dispõem de uma fragrância mais intensa e agradável.

Com o mosto em fervura, é adicionado o lúpulo, facilitando a transferência das suas características para o líquido e sua solubilização, transformando os alfa-ácidos presentes em iso-ácidos, possibilitando também a minimização de reações indesejáveis, todo esse processo é denominado lupulagem (Cangussu *et al.*, 2022).

2.4.4 Levedura

Após resfriado, o mosto, pode então receber a levedura, Figura 5, e a fermentação se dará em duas fases, a primeira, aeróbia, onde as células irão se multiplicar de 2 a 6 vezes, e a segunda, anaeróbia, na qual, na ausência de oxigênio, os açúcares serão convertidos em CO₂ e Álcool etílico, de acordo com Venturini Filho e Cereda (2008).



Figura 5: Visão microscópica de leveduras de cultivo

Fonte: A Autora

As leveduras são utilizadas em uma série de processos fermentativos, como cervejas, vinhos, laticínios, bioetanol e antibióticos, porém, de acordo com Venturini

Filho e Cereda (2008), elas são empregadas há bastante tempo em produções de pães, vinhos cervejas e outros alimentos. Elas são classificadas como fungos unicelulares de reprodução rápida, White e Zainasheff (2010) relatam que em apenas uma colônia visível em uma placa Petri contém, há cerca de 1 milhão de células.

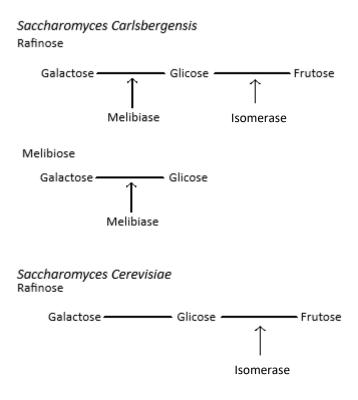
As células transformam, em anaerobiose, devido ao seu metabolismo, os açúcares contidos no mosto em álcool, gás carbônico e outros compostos. Na natureza a levedura pode fermentar espontaneamente o mosto cervejeiro, trazendo um perfil peculiar característico a cerveja, essas, são denominadas "leveduras selvagens" (Pereira, 2021).

Na produção de cerveja são empregados fungos leveduriformes de uma cultura pura, do gênero *Saccharomyces*, para tal é importante levar em consideração que o metabolismo e o crescimento da cultura selecionada terão grande influência no produto final, desse modo há uma série de características entre diferentes tipos de cepa (Kunze, 2006).

2.5 FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA

No contexto da produção de cerveja, as cepas de levedura desempenham um papel fundamental. Por exemplo, as cepas de *Saccharomyces uvarum* (*carlsbergensis*), usadas na produção de cervejas do tipo lager, possuem genes MEL, enzima melibiase que tem como principal função hidrólise da melibiose. Essa hidrolise resulta na liberação de galactose e glicose livres, como apresentado na Figura 6, que podem ser utilizadas pela levedura como fontes de carbono e energia. Em contraste, as cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, utilizadas na produção de cervejas do tipo ale, não possuem esses genes, resultando na incapacidade de fermentar a melibiose cervejeira (Russell; Stewart, 2009).

Figura 5: Aproveitamento da Rafinose e Melibiose pela *Saccharomyces carlsbergensis* diferentemente da *Saccharomyces cerevisiae* que não possui a melibiase



Fonte: Adaptado de Russell e Stewart (2009)

Essa distinção genética, representada na Tabela 1, justifica a manutenção dessas cepas como entidades separadas, com implicações significativas para o processo de produção cervejeira (Russell; Stewart, 2009).

Tabela 1 - Diferenças entre S. *uvarum* e S. *Cerevisiae*.

S. uvarum	S. cerevisiae		
Possui genes MEL	Isento de genes MEL		
Não cresce com temperatura superior			
a 34°C	Cresce com temperatura a 37°C		
Baixa fermentação	Alta fermentação		
7 a 10 dias	3 a 5 dias		
Temperatura de fermentação entre	Temperatura de fermentação entre		
7°C e 13°C	15°C e 24°C		

Fonte: Adptado de Venturini Filho e Cereda (2001)

De acordo com Lima et al.(2002), a fermentação alcóolica se dá no citoplasma celular, o aparato enzimático contido nele auxilia nas 12 reações em sequência ordenada e envolvidas na transformação da glicose em etanol e CO₂, Figura 7, cada reação é catalisada por enzima específica ou complexo enzimático, denominadas "glicolíticas". O desempenho da fermentação está ligado a ação de fatores que estimulam ou reprimem a ação enzimática e o produto final depende das condições ambientais em que a levedura, como aeróbio facultativo, encontra-se.

Fermentação alcoólica CH_OH CH_OH CH₂OH Etanol ÇН₂ОН +H₂PO₄ ĊН₃ Glicogênio fosforilase AMP(+) NAD* desidrogenase NADH+H* ĊНО CH₂OH CH₂OH CH₂OH + CO₂ CH. descarboxilase pirúvica, Mg Maltose соон maltase fosfoglicomutase, Mg+1 C=O CH₂OH CH₂-P CH₃ quinase pirúvica ⋆ATP hexoquinase, Mg+ trealase - ADP K+, Mg+ СООН fosfoisomerase Ç-P CH₂-P CH,OH CH, ATP enolase hexoguinase, Mg¹ invertase COOH fostofrutoquinase, Mg** AMP (+) ATP(-) Citrato(-) H-Ç-P ADP * CH,OH CH₂-P CH₂-P fosfogliceromutase, Mg++ -aldolase ATP COOH CHO NAD+ NADH+H+ COO-P ADP СНОН CHOH fosfoglice-roquinase isomerase desidrogenase CH,-P CH, P CH₂-P CH.-P NADH+H* NAD+ desidrogenase ÇН₂ОН CH,OH Mg™ CHOH fosfatase CHOH + Pi CH₂OH CH₂-P Glicerol

Figura 6: Sequência de reações enzimáticas conduzidas por Sacharomyces.

Fonte: Lima et al (2001)

2.6 PROCEDIMENTOS UTILIZADA NO PROCESSO DE PRODUÇÃO E ENVIO DAS CEPAS

A preservação e manutenção de micro-organismos são essenciais para garantir sua disponibilidade contínua. Dessa forma, é importante encontrar métodos preservem as culturas, não comprometam sua viabilidade e nem induzam mutações indesejadas, as quais podem afetar características da cepa. A escolha do método de manutenção adequado deve considerar as características específicas do microrganismo, equilibrando vantagens e desvantagens de cada técnica disponível. (Sola et al, 2012)

A Saccharomyces cerevisiae é uma levedura que se destaca como uma ferramenta valiosa na pesquisa básica. É amplamente utilizada em aplicações industriais, em condições aeróbias e é capaz de utilizar a estrutura respiratória para metabolizar sacarídeos, gerar biomassa, promover crescimento. Já em condições anaeróbias produz etanol e outros compostos, além de produzir inúmeros compostos aromáticos voláteis e ser resistente a elevadas concentrações de açúcar (Parapouli et al., 2020).

A taxa de fermentação é afetada diretamente pelas condições de armazenamento. O glicogênio existente nas células serve como reserva de energia e influencia diretamente a viabilidade e a atividade metabólica da levedura. Dessa forma, para a recolha do tanque, deve-se evitar a inclusão do oxigênio e o resfriamento rápido em temperaturas de 2-5°C. Em laboratório um dos métodos mais adequados para armazenamento de culturas se dá em 4°C, em ágar nutriente com subcultivo a cada 6 meses (Kunze, 2006).

2.6.1 - Análises de leveduras

O desempenho bioquímico da levedura durante a fermentação é fortemente ligado a qualidade da cerveja. A levedura deve possuir capacidade de se separar da cerveja no momento apropriado, utilizar açúcares de maneira rápida e eficiente, e produzir um vinho com alto teor de etanol e o equilíbrio preciso dos compostos de sabor. Dessa forma, muitos fatores podem afetar o produto final, fazendo-se

necessárias análises que comprovem a qualidade da levedura (Boulton; Quain, 2007), tais como pH, viabilidade, vitalidade e compactação que serão descritos a seguir.

- pH: White e Zainasheff (2020) expõem a importância do acompanhamento desta medida durante a fermentação, pois através dela é possível detectar precocemente, por exemplo, a morte celular, já que um dos indicadores é o aumento do pH.
- Viabilidade celular: Segundo White e Zainasheff (2020), esse termo refere-se ao fato da levedura estar viva ou morta. Uma viabilidade inferior a 90 por cento impacta consideravelmente no sabor do produto final. Para distinguir as células vivas das mortas utiliza-se azul de metileno 0,1% m/v, autores como Ceccato-Antonini (2022) descrevem o prepare dessa solução com citrato. Partes iguais da amostra e do azul de metileno são misturadas e as células mortas, após 15minutos, ficam coradas de azul escuro.

A Equação 1 é utilizada para calcular a viabilidade:

$$= \frac{(Contagem\ de\ c\'elulas\ totais) - Contagem\ de\ c\'elulas\ mortas}{(Contagem\ de\ c\'elulas\ totais)} X\ 100\% \quad (1)$$

Exemplo: Se 35 de 1.100 células estão mortas, a viabilidade é 96,8%.

- Vitalidade: Bouton e Quain (2007) informam que as análises de vitalidade devem ser simples e rápidas, para que auxiliem na tomada de decisão quanto ao uso do fermento, pois esse método identifica a levedura que produzirá um desempenho vigoroso e mais rápido de fermentação. Para isso a vitalidade pode ser medida baseada na composição celular, na quantidade de glicogênio, pois fornece carbono e energia para síntese do esterol, pouca quantidade de glicogênio implica em uma fermentação lenta presente na célula. Determinação da quantidade de glicogênio pode ser medida pela reação de cor com o iodo seguindo o procedimento a seguir:

Preparação da amostra: As células de levedura são colhidas e preparadas em uma lâmina de microscopia. É adicionado iodo que pode ser em solução de 0,2% m/v

Adição do reagente: A solução de iodo, que pode ser de 0,2% a 1% m/v, é adicionada à amostra. O iodo reage com o glicogênio presente nas células de levedura.

As células que contêm glicogênio ficam coradas de uma cor marrom escura ou preta, enquanto as células com pouco ou nenhum glicogênio permanecem de uma cor mais clara.

- Compactação: Serve para avaliar a concentração de levedura propagada, ajustar a quantidade de levedura inoculada no mosto o que é fundamental para garantir uma fermentação eficiente e otimizada, reduzindo custos e desperdícios. Esse processo frequentemente envolve a separação do fermento do meio de cultura. Autores como Boulton e Quain (2007) e Kirsop e Roberts (1977) descrevem métodos detalhados de determinação da compactação que serão descritos a seguir.

Uma amostra será coletada da cultura de levedura propagada, a seguir, deve ser centrifugada. Para isso, Coloca-se a amostra em tubos de centrifuga e leva-se a Centrifugar a uma velocidade específica, geralmente entre 3000 a 5000 rpm, por 5 a 10 minutos. Este processo separa o líquido sobrenadante da concentração de levedura que se encontrará no fundo do tubo (Figura 8).

O cálculo da concentração de Levedura é feito utilizando a medida do volume do decantado. Este valor é geralmente expressado em volume de células compactada pelo volume total.



Figura 7: Exemplo da análise de compactação

Fonte: A Autora

2.7 GESTÃO DE QUALIDADE

Uma das mais conhecidas ferramentas de melhoria contínua é o ciclo PDCA (Figura 9). Ele é dividido em quatro etapas: Planejar, que envolve a definição dos

propósitos e dos métodos para alcançar resultados específicos; Fazer, coleta de dados e execução do projeto; Checar, análise dos dados obtidos; Agir, padronização das ações implementadas. (Xavier; Xavier; Xavier, 2019)

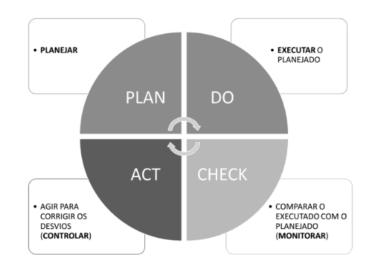


Figura 8: Ciclo PDCA para gerenciamento de projetos

Fonte: Xavier, C.; Xavier, A.; Xavier L. (2019)

Liker e Ross (2019) ressaltam a importância do envolvimento dos operadores para obter sucesso no contexto do ciclo de melhoria contínua, já que a operação possui capacidade de prover dados essenciais para investigação e priorização das causas. Assim, a base desse estudo foi a busca por estratégias que aumentassem a compactação celular nas remessas enviadas às cervejarias.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A presente metodologia visa o estabelecimento de procedimentos para envio e controle de qualidade de cepas de levedura. Este estudo também visa fornecer treinamento adequado aos funcionários envolvidos e implementar um sistema de registro para monitorar cada lote de cepas produzidas.

Para esse estudo, foram empregados quatro tipos de cepas diferentes, sendo chamadas de A, B, C e D, onde somente duas dessas, entre elas uma que apresentava um percentual muito baixo de compactação, característico da estirpe, tiveram seus dias em processo aumentados. O projeto foi dividido em duas fases distintas: produção e envase. A produção compreende o período de propagação do fermento nos tanques e o envase da cepa, no qual o produto é transferido do tanque para a embalagem, onde é etiquetado, embalado em caixas e enviado para as respectivas cervejarias.

Para a cepa D, quatro envases foram acompanhados inicialmente, porém com a adição do antiespumante e aumento do volume do tanque propagador, mais quatro envases consecutivos dessa cepa foram monitorados. Para as outras somente quatro envase consecutivos foram acompanhados. Cada cepa foi analisada quanto à compactação, contagem de células e o peso da bombona envasada.

3.1 PROPAGAÇÃO DE LEVEDURAS

A distribuidora de leveduras trabalha com cepas Saccharomyces carlsbergensis, leveduras de baixa fermentação do tipo Lager, e o preparo do inóculo segue o mesmo método descrito por Almeida Lima et al. (2001), para leveduras selecionadas.

Primeiramente o processo iniciou no laboratório, onde a cultura pura foi inoculada em concentrações crescentes, escalonada, de um tubo (Figura 10a), para um frasco Schott (Figura 10b) depois um balão de Pasteur (Figura 10c) até chegar em um pequeno reator utilizado no laboratório, "post-mix" (Figura 10d). Quando a levedura propagada atingiu o volume necessário para transferência aos tanques industriais, o inóculo passou então, então para um inoculador instalado na linha (Figura 10f). Após

essa etapa, as amostras são colhidas durante os três turnos e submetidas a análises de pH e extrato. Os dados são documentados em um caderno da operação. Depois de dois dias, ou até atingir 30% de atenuação no extrato, o inóculo foi transferido para o próximo tanque, denominado propagador (Figura 10e). A cepa então permanecerá no propagador por seis dias até o envase. A Figura 10 ilustra o processo da sequência de transferências.

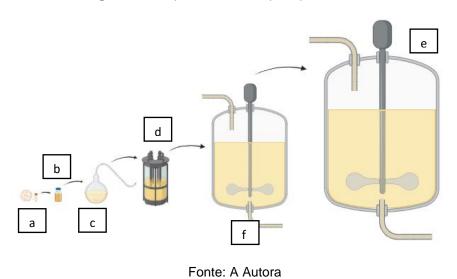


Figura 10: Preparo do inóculo para processo fermentativo

3.2 PROCEDIMENTOS PARA AS LINHAGENS

Para as Cepas A, B e C, quatro envases consecutivos foram acompanhados. Para a cepa D, foram acompanhados quatro envases inicialmente e verificou-se a necessidade de adição do antiespumante, bem como o aumento do volume do tanque propagador. Desta forma, mais quatro envases consecutivos dessa cepa foram monitoradas. Cada cepa foi analisada quanto à compactação, contagem de células e o peso da bombona envasada.

Para garantir que todas as cervejarias recebessem uma quantidade equivalente de massa, cada fábrica recebeu bombonas provenientes do início, meio e fim do envase, a fim de obter uma melhor distribuição de massa. Da mesma forma, os resultados das análises realizadas na Unidade de cultivo de leveduras foram obtidos pela média das amostras, para que os dados fossem igualmente representativos.

3.2.1 - Procedimentos para as Cepas A e B

As linhagens A e B já eram envasadas na distribuidora por um tempo maior que a C e a D, por isso, já era de conhecimento dos funcionários que elas assumiam um perfil mais pastoso durante a maior parte do envase, de posse dessa informação determinou-se que apenas quatro envases seriam monitorados.

Além disso, foi implementado um controle mais rigoroso da massa a ser inserida nas bombonas, com o objetivo de alcançar uma maior homogeneidade no processo de envase. Dessa forma, o peso das bombonas preenchidas era medido aleatoriamente durante o processo de envase. Entretanto, a medição se tornava obrigatória sempre que ocorria a transição da consistência pastosa para o fermento em suspensão.

3.2.2 - Procedimentos específicos para as Cepas C e D

Inicialmente, o processo de inoculação de todas as cepas era realizado às terças-feiras, com a transferência para o tanque final ocorrendo às quintas-feiras. O período de fermentação no tanque final durava sete dias, com o envase sendo realizado na quinta-feira da semana seguinte.

Com o estudo, houve uma mudança no tempo de fermentação no tanque final. O novo procedimento envolveu a inoculação das cepas C e D às sextas-feiras, seguida pela transferência para o tanque final aos domingos. O envase então ocorreu na quarta-feira da semana subsequente, permitindo que o fermento permanecesse no tanque final por um período estendido de dez dias.

Além do controle de massa no envase das linhagens, um ajuste específico foi realizado no tanque propagador da cepa D, após a análise de quatro envases consecutivos. Este ajuste envolveu a adição de um agente antiespumante ao processo, bem como o aumento do volume do tanque propagador. Após essa modificação a cepa D foi acompanhada por mais quatro envases.

3.3 ENVASE DAS CEPAS

O envase ocorreu após as cepas terem completado um período de 9 a 12 dias em processo, sendo o período maior para as cepas C e D. O propagador referente a levedura determinada é conectado a uma mangueira, que será utilizada para enchimento das bombonas, essas serão encaixotadas e enviadas até o consumidor final, as cervejarias de todo o Brasil pertencentes a indústria cervejeira na qual o projeto foi implementado.

Os envases ocorreram da seguinte maneira: enquanto um operador regulava a vazão da mangueira e o enchimento, um supervisor passava as bombonas vazias, pela esteira transportadora de rolete, até a mangueira, aguardava o enchimento e depois de cheia, um auxiliar rosqueava, com auxílio de uma chave, a tampa da bombona, esse processo foi realizado até o fim do envase. As bombonas foram etiquetadas de um até a quantidade determinada previamente, essa determinação foi baseada na solicitação de fermento das cervejarias. Cada cervejaria recebeu bombonas aleatórias do início, meio e fim do envase, de modo a garantir um recebimento homogêneo para todas. Amostras foram colhidas de forma a mapear o perfil que a cepa desempenhou durante o período de envase. Cada bombona correspondente a amostra colhida foi pesada. Nessas amostras, análises físico-químicas para liberação do fermento da Unidade foram realizadas no laboratório.

3.4 ANÁLISES LIBERATÓRIAS

São chamadas análises liberatórias todas aquelas referentes a liberação do fermento para saída da Unidade, entre elas pH, viabilidade, vitalidade e compactação, que são análises físico-químicas, como também plaqueamento das amostras dos tanques que foram envasados no dia. As análises microbiológicas seguram especificações diferentes a depender do tipo de fermento envasado que não foram objetivo de estudo no momento.

3.4.1 pH

Está análise dependia da calibração diária do pHmetro e possuía o objetivo de observar as condições do fermento. Quando há muita cerveja no meio o pH tendia a

ser mais baixo, em torno de 4, valor habitual da cerveja segundo Rosa e Afonso (2015), do que quando existia mais fermento.

O processo consistia na imersão do eletrodo do instrumento na alíquota que se desejava realizar a análise, como mostrado na Figura 11.O pHmetro mostrava no visor o valor do pH encontrado.



Figura 11: pHmetro de bancada

Fonte: A Autora

3.4.2 Compactação do fermento

A análise de compactação seguiu um padrão operacional da própria companhia. A amostra foi disposta em dois tubos, tipo Falcon graduados; pesou-se 10g da amostra em cada um dos tubos que posteriormente foram submetidos a centrifugação a 150rpm por 10 minutos. O resultado foi obtido através da média do cálculo (equação 2):

$$C = \frac{V_l}{V_T} \cdot 100\% \tag{2}$$

Onde,

C: Compactação

 V_l : Volume da concentração de leveduras decantadas após centrifugação

3.4.5 Células mortas e totais

Nessa etapa é quantificado as células mortas e totais presentes na amostra. Do mesmo modo que Schmidell et al. (2001), na distribuidora leveduras a contagem de células pode ser determinada por duas maneiras, em câmaras de contagem, normalmente a de Neubauer, ou em um contador automático, essa determinação por sua vez tende a ser mais precisa, sendo a mais utilizada na Unidade de cultivo de leveduras.

3.4.5.1 Funcionamento do Cellometer

A Unidade de cultivo de leveduras conta com um contador automático, o Cellometer K2 que foi projetado de maneira a caber em pequenos espaços de laboratório, podendo contar células, medir seu tamanho e detectar propriedades de fluorescência das células. Os principais passos no funcionamento do Cellometer incluem:

Preparação da Amostra: A amostra a ser liberada é preparada seguindo duas diluições, a primeira com solução salina, Figura 12a, normalmente realizada por peso. Onde, a proporção deve seguir sempre 1g de amostra para quanto deseja-se diluí-la a depender da concentração de leveduras no meio. Amostras com grandes concentrações de células devem ser diluídas buscando um campo de contagem mais claro. A segunda diluição é feita na proporção de 1:1, 1ml da amostra de levedura mais 1ml da solução de azul de metileno, 0,1%, adquirida pronta da marca Dinâmica Química®

Nessa análise o azul de metileno é utilizado como corante para distinguir as células vivas das células mortas. As células mortas possuem metabolismo inativo e não conseguem reduzir o corante que acaba por penetrar a membrana celular,

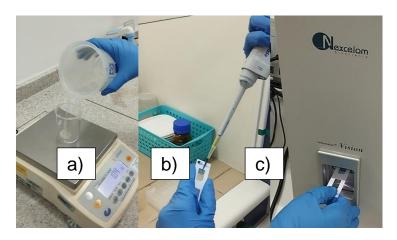
permanecendo azuis. Já as vivas reduzem o azul de metileno tornando-se incolores ou levemente tingidas de azul.

Esse instrumento combina o campo claro, onde uma luz é transmitida diretamente através da amostra, com a dupla fluorescência, as células coradas emitem a luz em um comprimento de onda diferente quando excitada pela fonte de luz. Somado ao *software* de reconhecimento de padrões, o Cellometer consegue fornecer simultaneamente a viabilidade (%), contagens de células vivas, mortas e totais.

3.4.5.2 Preparo da amostra para introdução no Cellometer

Deve-se homogeneizar a amostra e dilui-lá. A primeira diluição é feita em base mássica e é realizada ajustando-se a quantidade de solução salina, NaCl 0,85% m/v, adicionada de acordo com o fator de diluição determinado empiricamente com base na concentração inicial da amostra (Figura 12a). A depender das características visuais da amostra, quanto as células em suspensão, é tomado o fator de diluição desejado, esse valor representa a proporção pela qual a concentração original deve ser reduzida, a fim de não sobrecarregar o campo de leitura do Cellometer com grúmulos de células. 1g da amostra é separado para diluição e posteriormente adicionado à solução salina. Por exemplo para a diluição 1:19, adiciona-se 19g de solução para cada grama de amostra. Por fim, a solução deve ser muito bem homogeneizada, assegurando uma diluição consistente.





Já a segunda diluição segue a proporção de 1:1 (v/v) com a amostra proveniente da primeira diluição sendo diluída mais uma vez, agora com azul de metileno, uma alíquota dessa amostra é colhida e introduzida na Câmara de Contagem Descartável, Figura 12b, sendo espalhada de forma automática por capilaridade.

Essa câmara é levada ao Cellometer, como mostrado na Figura 12c, onde é fornecido a viabilidade, as células totais e mortas, onde pode ser avaliado, como já mencionado, a proporção de células vivas em relação as presentes na amostra, a ocorrência de problemas na propagação, como estresse ou cultivo inadequado da cepa.

3.5 DEFINIÇÃO DE OBJETIVOS E DESENVOLVIMENTO DE PROCEDIMENTOS

A média dos resultados das análises liberatórias realizadas com as amostras colhidas na Distribuidora de fermento foi utilizada como base para a liberação do fermento. Como mencionado, as cervejarias recebem bombonas aleatórias do início, meio e fim do envase, desejando-se um aumento de massa enviada e uma homogeneidade nas bombonas recebidas pelas unidades, de forma que bombonas com mais massa, ou seja as primeiras envasadas, compensem a com menor concentração de massa, as últimas envasadas. Dessa forma espera-se que o resultado encontrado na Unidade de cultivo de leveduras seja o mesmo encontrado nas cervejarias.

Para este trabalho as especificações tomadas para compactação do fermento e contagem de células seguiram conforme estabelecido por padrões globais da Companhia. Onde a compactação da levedura deve apresentar no mínimo 20% do volume total da suspensão de 10mL e a contagem de células totais não deve ser inferior a 1,00x10⁷ células de levedura por mL de cerveja.

Assim o procedimento efetuado pelas cervejarias receptoras de fermento é executar as análises e certificar que as leveduras que chegarem na unidade atenda os critérios exigidos para produção de cerveja de alta qualidade.

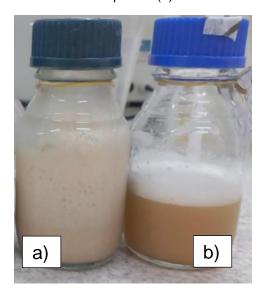
Para a distribuidora, os operadores devem seguir critérios rigorosos de enchimento das bombonas visando a melhor disposição de massa entre elas, por isso devem estar familiarizados com as características de cada cepa.

3.6 TREINAMENTO DA OPERAÇÃO QUANTO AO ENCHIMENTO DA BOMBONA FRENTE ÀS CARACTERÍSTICAS DAS CEPAS E O REGISTRO DE QUALIDADE

A bombona utilizada no envase foi previamente medida quanto o seu volume. Com base nesse resultado estabeleceu-se que as cepas que apresentassem visualmente a característica de fermento pastoso, Figura 13a, teriam capacidade de preencher os 30L da bombona. Porém ao começar a transição para células em suspensão, exemplificado pela amostra da Figura 13b, o operador deveria preencher a bombona de tal modo que o peso da mesma não exceda os 20kg.

Esse peso foi determinado a fim de evitar a sobrecarga dos trabalhadores, ao transportar as bombonas, causando problemas de ergonomia ou possíveis vazamentos durante o processo de envase e de envio.

Figura 13: Amostras de uma mesma cepa na condição pastosa (a) e como fermento em suspensão(b)



Fonte: A Autora

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para representar os resultados de forma qualitativa, pode-se analisar o Quadro 1, onde são mostrados o comportamento das cepas A, B, C e D.

Quadro 1- Resumo dos Resultados por Cepa

Сера	Comportamento da Compactação	Comportamento da Contagem de Células	Comportamento da Massa
A	Leves alterações na compactação ao longo dos envases monitorados.	Variações na contagem de células correspondentes à compactação. Primeiro envase com valor muito menor.	Massa inicial aleatória, ajustada proporcionalmente com o decaimento da compactação.
В	Boa reprodutibilidade em três dos quatro envases. Exceção em 24/05 com compactação e contagem de células abaixo do esperado.		Erros de medição ocasionaram em valores flutuantes
С	Resultados consistentes ao longo de todo o envase. Alta compactação inicial.	Contagem de células segue padrões semelhantes à compactação.	Seguiu-se comportamento de curva polinomial
D	Compactação inicial abaixo da especificação. Após intervenção, compactação melhorada até 50,75%.	Flutuações na contagem de células, porém seguindo os padrões da compactação.	Seguiu-se comportamento de curva polinomial

Fonte: A Autora

4.1 CEPA A

É possível perceber a evolução do controle de massa nas bombonas na Figura 14. É desejável que a massa aumente à medida que a compactação diminui e isso pode ser percebido pelo operador que controla a mangueira, ao passar um fermento mais pastoso. Por conta disso, o mesmo diminui o enchimento de forma que menos massa seja colocada na bombona do que com fermento em suspensão. No dia 17 de maio notou-se um controle melhor que no dia 3, mostrando a familiarização da operação com as características da estirpe.

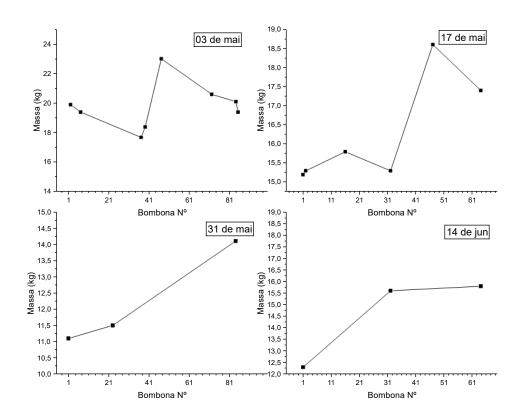


Figura 14: Massa das bombonas envasadas com a cepa A

Para cepa A nos dias 03 e 31 de maio, foram produzidas 85 e 84 bombonas respectivamente, nos dias 17 de maio e 14 de junho 64 bombonas foram envasadas. Os gráficos permitem perceber o aumento de peso conforme o número de bombonas aumenta, o que é necessário para a homogeneidade do fermento enviado as cervejarias.

A compactação da bombona de número 1 nos envases analisados permaneceu relativamente estável, com pequenas variações, mantendo-se acima de 38% de volume de fermento por mL de cerveja. No entanto, ao comparar o envase realizado em 3 de maio com o realizado em 31 de maio, após a implementação do trabalho, observa-se um aumento significativo na compactação da bombona 84. No primeiro caso, o gráfico mostrava uma compactação de 4,65%, que aumentou para 24,6% de volume de fermento por mL de cerveja, isto pode ser observado na Figura 15.

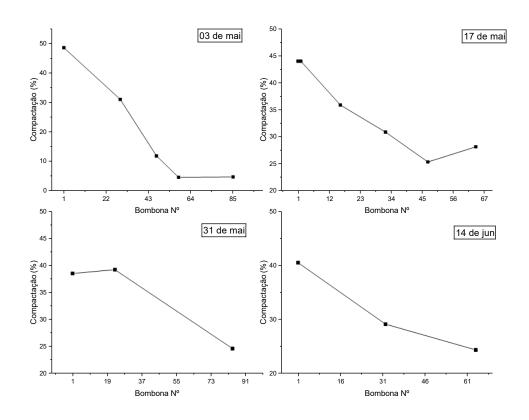


Figura 15: Compactação da cepa A

Devido o comportamento previsível dessa cepa e ao bom desempenho frente as melhorias, a partir do segundo envase, menos amostras foram analisadas, voltando a coleta habitual de amostras: início, meio e fim.

A contagem de células mostrou variações correspondentes as observadas na compactação, porém ao comparar o envase do dia 03 de maio com os outros, foi possível notar que a bombona 1 apresentou menor número de células por mL de cerveja comparado com as bombonas 1 dos outros envases. Além disso, a bombona de número 84 decaiu para 1 bilhão de células por mL, duas ordens de grandeza a menos que a bombona 84 do dia 31 de maio, bem como das demais últimas bombonas analisadas. Mostrando a efetividade da aplicação apenas de controle de peso das bombonas (Figura 16).

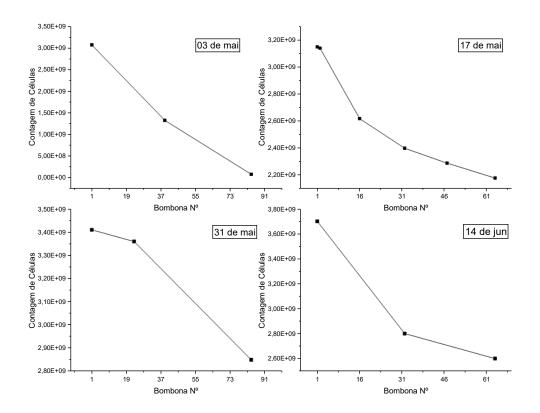


Figura 16: Contagem de células da cepa A

A compactação e o número de células diminuíram à medida que o número de bombonas envasadas aumentaram, o que era esperado. Na bombona de número 1, que foi cheia imediatamente após abertura da mangueira, a concentração de massa foi alta, pois o fluxo inicial trouxe principalmente a massa decantada. À medida que a válvula da mangueira foi fechada e a próxima bombona foi posicionada para repetir o processo, a cerveja que se encontrou superior ao fermento no tanque começou a dominar o conteúdo da bombona subsequente. Já que no tanque ocorreu uma transição gradual do fermento decantado para cerveja. A concentração de massa nas bombonas diminuiu gradualmente, uma vez que a massa decantada se esgotou progressivamente, enquanto o volume de cerveja que passou para a bombona aumentou na mesma proporção, devido à sequência de enchimento e à estratificação natural do conteúdo do tanque.

Esses resultados implicaram que utilizando apenas princípios de balanço de massa, uma resposta promissora dos parâmetros anteriores foi alcançada.

4.2 CEPA B

Assim como observado com a cepa A, o primeiro envase estudado serviu como momento de familiarização da equipe com as características específicas da levedura. No gráfico do dia 10 de maio da Figura 17, a bombona 1 apresentava maior massa que a bombona 64, o que não era desejável. Pois uma distribuição de massa uniforme é muito importante para compensar a baixa concentração de massa na última bombona, dessa forma é necessário que o peso do material enviado aumente progressivamente ao longo do envase. Essa variação ressaltou o período de adaptação para a equipe compreender e ajustar os parâmetros operacionais necessários para otimizar a distribuição de massa durante o processo de envase. Controlando o peso das bombonas foi possível manter a qualidade e características desejadas sem flutuações significativas.

17,2 10 de mai 19,5 24 de mai 17,0 19.0 16,8 18.5 166 Massa (kg) 16,4 18,0 16,2 17,5 15,8 17.0 15.6 16,5 15.4 21 Bombona Nº 25 Bombona Nº 07 de jun 21 de jun 18.0 24 23 17,8 Massa (kg) 9'11 g 22 Massa (17.4 19 17,2 18 26

Figura 17:Massa das bombonas envasadas da cepa B durante o estudo

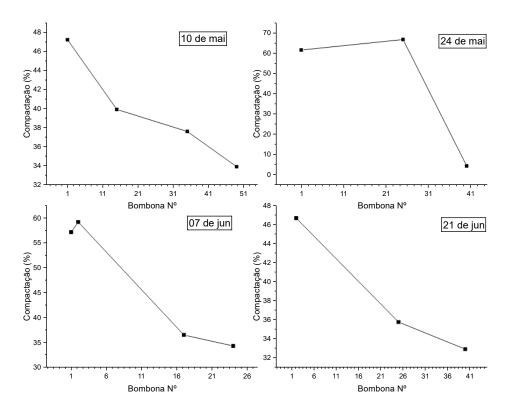
Fonte: A Autora

Bombona No

Bombona Nº

Entre os quatro envases monitorados, três apresentaram uma boa reprodutibilidade para essa cepa, assim como a cepa A. No entanto, houve uma exceção no dia 24/05, onde, ao final do envase, a contagem de células e a compactação estavam abaixo do esperado. Fora esse evento, a compactação manteve-se dentro das especificações em todas as bombonas enviadas. A Figura 18 dispõe os gráficos do comportamento da compactação dessa cepa.

Figura 18:Compactação analisada da cepa B nos dias 10 e 24 de maio e nos dias 07 e 27 de junho.

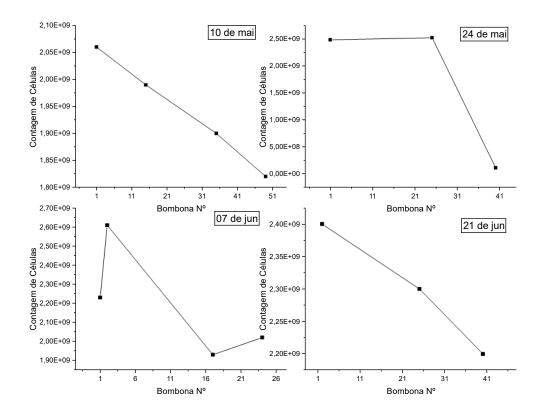


Fonte: A Autora

A Figura 19 expõe os gráficos das contagens de células dos envases acompanhados. Do mesmo modo da compactação, apenas no dia 24/05 encontrouse, na última bombona um valor inferior a 1 bilhão de células por mL de amostra, a especificação adotada pela distribuidora de leveduras é de 10milhões de células por mL. Ao fazer a média dos resultados encontrados nas amostras, obtêm-se +/-

1,72x10^9 células por mL dessa forma foi possível realizar a liberação dessas bombonas para as cervejarias.

Figura 19: Contagem de células da cepa B nos dias 10 e 24 de maio e nos dias 07 e 27 de junho.



Fonte: A Autora

Foi possível notar que, além do baixo número de células no dia 24 de maio, no dia 07 de junho resultados aleatórios foram encontrados, esses eventos adversos devem ter se dado por algum erro operacional. Pois apesar de terem seguido os critérios de apresentar uma massa elevada nas última bombonas, poucas amostras foram colhidas resultando em uma análise pobre, com poucas informações sobre o processo.

4.3 CEPA C

O peso das bombonas apresentou como resultado características de uma curva polinomial que correspondeu as expectativas teóricas, Figura 20. Inicialmente, valores

baixos, devido à alta compactação inicial e seguindo o avanço do número de bombonas envasadas e o esgotamento de massa no tanque devido ao enchimento anterior, apresentando um aumento gradual esperado para um equilíbrio de massa, de modo a manter a densidade do produto envasado tão próxima quanto possível da inicial

02 de mai 18 de mai Massa (kg) 18 81 17 Massa (kg) 61 61 18 -16 -Bombona Nº Bombona Nº 31 de mai 14 de jun 20 -Massa (kg) 81 81 02 Massa (kg) 15 -14 -Bombona No Bombona Nº

Figura 20: Massa apresentada pelas bombonas analisadas contendo a cepa C

Fonte: A Autora

Assim como as anteriores, a Cepa C apresentou resultados consistentes ao longo de todo envase. Observou-se uma alta compactação inicial, Figura 21, com a contagem de células (Figura 22) seguindo padrões semelhantes aos observados na compactação.

02 de mai 18 de mai 60 -50 Compactação (%) Compactação (%) 20 10 -10 61 Bombona Nº Bombona Nº 60 -31 de mai 14 de jun 55 -Compactação (%) 10 -101 121 21 61 81 41 Bombona Nº Bombona Nº

Figura 21: Compactação da cepa C durante o acompanhamento

02 de mai 18 de mai 3,00E+09 3,00E+09 2.50E+09 2.50F+09 Célu 2.00E+09 ⊕ 2,00E+09 1.50F+09 1,00E+09 1,00E+09 5.00E+08 5,00E+08 49 53 3,50E+09 3,00E+09 3.00E+09 31 de mai 14 de jun 2,50E+09 Contagem de Células 2,00E+09 2,00E+09 1,50E+09 1.50F+09 1,00E+09 1,00E+09 5,00E+08 5.00E+08 101 121 61 121 61 81 101 Bombona No Bombona No

Figura 22:Contagem de células da cepa C em cada bombona analisada durante os envases acompanhados

Diferente dos registros das cepas anteriores, a cepa C teve uma amostragem significativamente maior, abrangendo muito mais bombonas que as outras nos três últimos envases. Essa ampliação na amostragem foi necessária porque a cepa C era uma nova implementação de estirpe e ainda não havia sido envasada na distribuidora. A necessidade de maiores testes se justificou para garantir a adequação do processo de envase, considerando as peculiaridades e características específicas desta nova cepa.

4.4 CEPA D

Os resultados da cepa D foram analisados em dois momentos distintos: antes e após a intervenção. A intervenção envolveu a adição de antiespumante e a modificação dos valores de volume e do tempo de residência no propagador. Para a

cepa D, os valores de peso das bombonas podem ser encontrados nos gráficos da Figura 23.

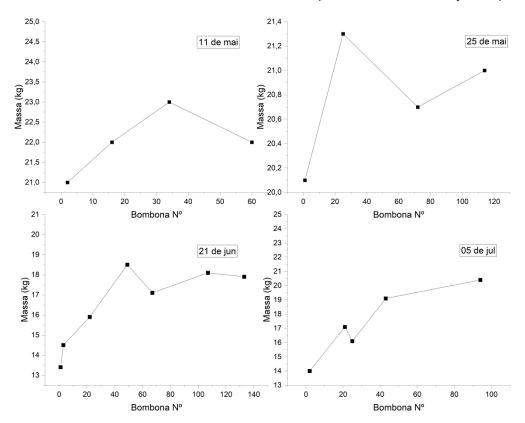


Figura 23: Massa das bombonas envasada contendo a cepa D antes da modificação no processo

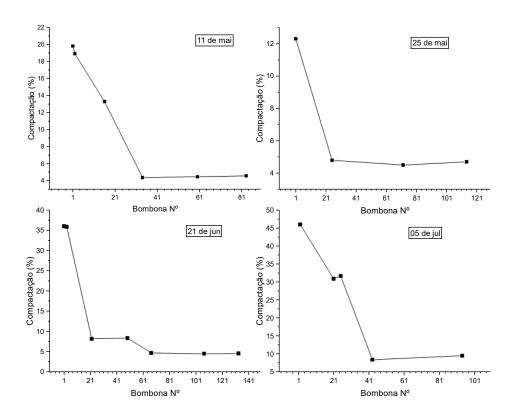
Fonte: A Autora

No dia 11 de maio, primeiro envase acompanhado, mostrou como eram enviadas as bombonas correspondentes a cepa D. Os pesos iam de 21 à 23 kg, mostrando a inexperiência dos operadores quanto as questões de ergonomia. No entanto, foi possível notar que as bombonas eram preenchidas conforme o desejado, seguindo uma progressão crescente. Isso ocorreu devido ao conhecimento das propriedades específicas desta estirpe, que, ao contrário das demais, apresentava um histórico de comportamento como fermento em suspensão desde a bombona de número 1. Tal característica facilitou tanto para o operador da mangueira quanto para a equipe de envase visualizar o aumento gradual do volume nas bombonas.

Antes da intervenção, a compactação inicial não passava de 19,8%, chegando até, no segundo envase observado, 12,3%, tais valores estavam abaixo da especificação estabelecida pela empresa para fermento em suspensão que foi de 20%. As Figuras 24 e 25 mostram um comparativo de como era o comportamento da

implementação do projeto em relação a sua compactação, contagem de células e massa das bombonas.

Figura 24: Compactação da cepa D antes da modificação no processo



Fonte: A Autora

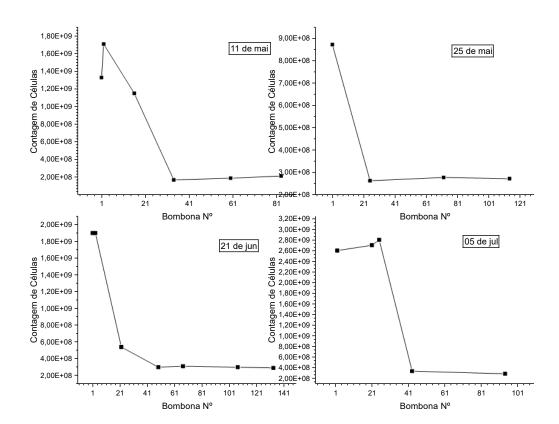


Figura 25: Contagem de células da cepa D antes da modificação no processo

Então a partir da aplicação da nova metodologia de processo, as bombonas iniciais chegaram a apresentar até 50,75% de compactação, os gráficos apresentados pela Figura 26 ilustram esse aumento.

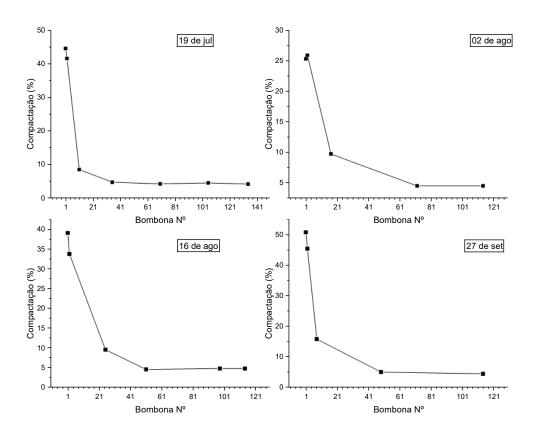


Figura 26: Compactação da cepa D após a modificação no processo

Estes valores de compactação mostram a influência do aumento do tempo de residência e volume do tanque propagador na produção de mais massa de levedura no fundo do tanque, como observado por Bouton e Quain (2007).

Ao comparar as bombonas de número 1 depois da modificação do processo com as de antes da aplicação do trabalho, obtém-se também um maior número de células iniciais e indo sempre até 10 milhões de células por mL nas últimas bombonas. A Contagem de células da cepa D após a modificação no processo pode ser analisada na Figura 27. A contagem de células por mL não era um problema para essa cepa, visto que as especificações adotadas pela distribuidora eram de 1,00x10⁷, e mesmo antes da implementação do trabalho a média dos resultados encontrados nas amostras eram dentro do desejado.

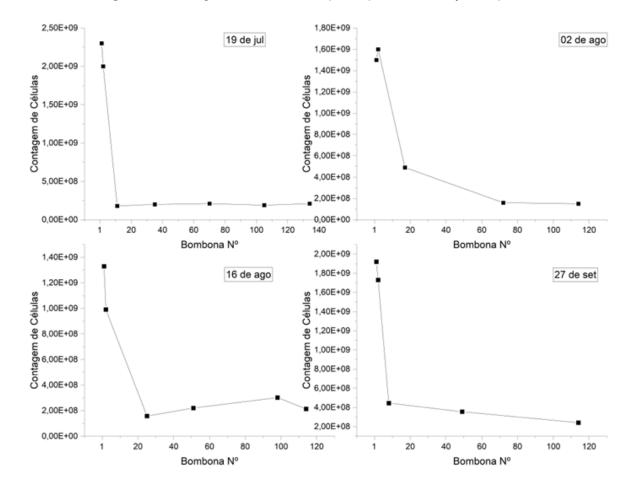


Figura 27: Contagem de células da cepa D após a modificação no processo

O tempo de residência de 10 dias no último tanque influenciou na melhor separação da fase líquida e pastosa, no entanto, como visto, todas as cepas apresentaram características próprias e a cepa D possuiu mais uma singularidade, ela foi naturalmente mais floculenta que as outras. Os resultados da compactação inicial foram muito positivos, mas deve-se levar em consideração as limitações da estirpe. Dessa forma, apesar dos operadores conseguirem um maior controle da vazão da mangueira, ao notar a mudança repentina de característica, de fermento pastoso para fermento em suspenção, eles aumentaram também repentinamente a quantidade de levedura envasada na bombona. Isso pode ser observado na Figura 28, onde os pesos saltam de um valor de 15 a 16 Kg para uma estabilidade no valor de 20 Kg.

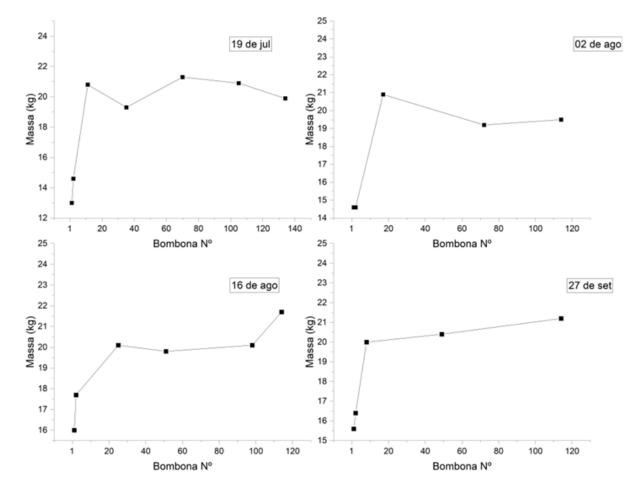


Figura 28: Massa das bombonas envasadas da cepa D após a modificação no processo

Desse modo, ficou estabelecido o monitoramento contínuo, tanto pela supervisão, quanto por todos os envolvidos na atividade, para que se registrasse cada alteração de característica da cepa ao longo desse processo. Para tal foi implementado também a capacitação da operação, apresentando todos os impactos dos cuidados tomados, o desenvolvimento do projeto e explicando o motivo das alterações na forma de envase. Cada operador foi treinado e acompanhado para que soubesse identificar a mudança de característica do fermento e o controle da vazão da mangueira frente a isso. Por fim, o padrão operacional do envase foi modificado a fim de enquadrar detalhes dos novos procedimentos que devem ser seguidos baseados na singularidade de cada estirpe de fermento.

O ciclo PDCA foi utilizado de forma sistemática durante o trabalho. No sentido de planejar as melhores estratégias para lidar com as características de cada linhagem, colocar em prática o planejamento, checar os resultados, padronizar e treinar a operação e permanecer em melhoria continuada.

Além disso, já era de conhecimento dos funcionários a necessidade de registrar os dados sobre cada lote produzido na distribuidora de fermento. Porém essa operação era pouco utilizada, com a implementação do projeto deste TCC os operadores perceberam a importância do controle de qualidade e desta forma foi incluída na rotina da operação o registro das informações de cada cepa desde a inoculação até a quantidade de bombonas envasadas por tanque.

5 CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos foi possível observar a individualidade de cada cepa. Cada uma delas apresentou características distintas especialmente quanto à sua compactação.

O controle de massa envasada mostrou-se uma medida eficiente para diminuir as flutuações de concentração de células ao longo do tempo. Assim como o aumento do tempo de residência do fermento no tanque propagador para a Cepa D melhorou significativamente a quantidade de leveduras enviadas por mL na bombona.

Dessa forma, tanto para se estabelecer um procedimento para compactação, quanto para otimizar e adequar um padrão de peso e volume, ficou claro que se faz necessário conhecer e adotar metodologias que se apliquem a particularidade de cada cepa. A gestão da variação dessas medidas durante o envase foi de suma importância para assegurar a consistência na qualidade do material enviado.

O contato direto com técnicos das cervejarias que receberão o fermento foi necessário para que o conhecimento sobre as cepas fosse difundido e as especificações fossem desenhadas corretamente para cada uma delas.

Os operadores da planta, mostraram uma resposta positiva aos treinamentos, conseguindo identificar a hora correta de diminuir a vazão, ou diminuir a quantidade de fermento em cada bombona, exemplificado bem pelos ensaios da cepa C.

Por fim, o monitoramento contínuo dos dados permitiu tomadas de decisões precisas. Conforme apresentado, a análise dos gráficos revelou que os dados seguiram uma curva polinomial. Observou-se uma correlação negativa entre o aumento do número de bombonas e a contagem de células, bem como a compactação, enquanto a correlação foi positiva em relação ao peso das bombonas. O que foi desejado, já que a massa devia aumentar proporcionalmente com a diminuição da compactação. Com o acompanhamento contínuo será possível escrever modelos que melhor descrevam as tendências da linhagem, de modo a predizer resultados e identificar eventuais problemas.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA LIMA, U., Aquarone, E., Schmidell, W., & Borzani, W. (2002). Biotecnologia industrial-vol. 3: processos fermentativos e enzimáticos. Editora Blucher 2001.

AMBEV **Perguntas Frequentes**. Disponível em: https://ri.ambev.com.br/perguntas-frequentes/>. Acesso em: 5 mai. 2024.

BARTH-HAAS GROUP. **The Barth Report 2022/2023**. [s. l.], 2023. Disponível em: https://www.barthhaas.com/fileadmin/user_upload/01-barthhaas-2022/Resources/BarthHaas_Report/2023/WEB_BarthHaas_Report_2022_23_EN.pd [s. l.], 2023. Disponível em: https://www.barthhaas_Report/2023/WEB_BarthHaas_Report_2022_23_EN.pd [s. l.], 2023. Disponível em: https://www.barthhaas_Report/2023/WEB_BarthHaas_Report_2022_23_EN.pd [s. l.], 2023. Disponível em: https://www.barthhaas_Report_2022_23_EN.pd [s. l.], 2024.

BARTH-HAAS GROUP. **The Barth Report**. Alemanha, jul. 2023.

Bohemia Puro Malte. **A Imperial Fábrica de Cerveja**. Disponível em: https://www.bohemiapuromalte.com.br/conhecimento/historia-de-sucesso>. Acesso em: 06 nov. 2023.

BOULTON, C.; QUAIN, D. **Brewing Yeast and Fermentation**. 1. ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. **Anuário da Cerveja 2022**. Brasília: MAPA/SDA, 2023. Disponível em: < https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/anuarios-de-produtos-de-origem-vegetal-pasta/anuario-da-cerveja-2022.pdf/view>. Acesso em 02 nov. 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. **Anuário da Cerveja 2024**. Brasília: MAPA/SDA, 2024. Disponível em: < https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/anuarios-de-produtos-de-origem-vegetal-pasta/anuario-da-cerveja-2024-ano-referencia-2023/view>. Acesso em 11 jun. 2024.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº. 65 de 10 de dezembro de 2019**. Estabelece os padrões de identidade e qualidade para os produtos de cervejaria. Brasília, DF, 2019.

CAZOMBO, H. E. M.; MAEDA, A. H. Fisiologia da fermentação da cevreja: Análise do desempenho fermentativo da levedura Sccharomyces Cerevisiae. **Congresso Internacional em Saúde**, n. 10, 14 jun. 2023. Disponível em: https://publicacoeseventos.unijui.edu.br/index.php/conintsau/article/view/23000/21874>. Acesso em: 06 nov. 2023.

CANGUSSU, L. B.; SILVA, N. L.; SOUZA, T. F. C. **Produção de cerveja**. 1. ed. Indaial: UNIASSELVI, 2022. 144p.

CECCATO-ANTONINI, S.R. Microbiologia da melhoria etanólica fundamentos, avanços e perspectivas. 1. ed. São Carlos: EdUFSCar, 2022. 211 p. ISBN 978-85-7600-521-6.

Cellometer K2 with Matrix User Manual. Disponível em: https://www.nexcelom.com/knowledge-base/Cellometer-k2-with-matrix-user-manual/. Acesso em: 17 abr. 2024.

COELHO NETO, D. M.; FERREIRA, L. L. P.; SAD, C. M. S.; BORGES, W. S.; CASTRO, E. V. R.; FILGUEIRAS, P. R.; LACERDA Jr, V. Chemical Concepts Involved in Beer Production: A Review. **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 01, p. 120–147, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200011>. Acesso em: 26 fev. 2024.

DURELLO, R. S.; SILVA, L. M.; BOGUSZ JR., S. QUÍMICA DO LÚPULO. **Química Nova**, v. 42, n. 08, p. 900-919, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170412. Acesso em: 10 dez. 2023.

GURGEL, M.; CUNHA, J. M. F. **Cerveja com design**. São Paulo: Editora Senac São Paulo, 2017.

HORNSEY, S. I. A History of Beer and Brewing. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2003.

KUNZE, W. **Tecnología para cerveceros y malteros.** 1. ed. Berlin: VLB, 2006. 1074 p.

LIMBERGER, S. C. História e evolução do capital cervejeiro no Brasil: do desenvolvimento nacional à internacionalização e as novas demandas do mercado.

Anais do XV ENANPEGE: Realize Editora, 2023. Disponível em: https://editorarealize.com.br/artigo/visualizar/94083. Acesso em: 11 jun. 2024.

LIKER, J. K.; ROSS, K. O Modelo Toyota de Excelência em Serviços: A Transformação Lean em Organizações de Serviço. 1. ed. Porto Alegre: Bookman, 2019. 448 p. ISBN 9788582604755. Trad. Francisco Araújo da Costa. Colab. Altair Flamarion Klippel.

MORADO, R. Larousse Da Cerveja: a História e as Curiosidades de Uma Das Bebidas Mais Populares Do Mundo. 1. Ed. São Paulo: Alaúde, 2017.

MOSHER, R. Tasting Beer: An Insider's Guide to the World's Greatest Drink. 1. ed. North Adams, MA: Storey Publishing, 2009.

PARAPOULI, M.; VASILEIADIS, A.; AFENDRA, A.-S.; HATZILOUKAS, E. *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. **AIMS Microbiology**, v. 6, n. 1, p. 1–32, 11 fev. 2020. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7099199/>. Acesso em 10 dez. 2023.

PEREIRA, C. M. **Cerveja: história e cultura**. São Paulo: Senac, 2021. Disponível em: https://books.google.com.br/books?hl=pt-

BR&Ir=&id=mCxMEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT6&dq=historia+da+cerveja&ots=7jS6V WfpcB&sig=sil3srgJNJtX-

x4d85V_zMie8QA#v=onepage&q=historia%20da%20cerveja&f=false>. Acesso em 10 dez. 2023.

PIMENTA, B. L.; RODRIGUES, J. K. L. A.; SENA, M. D. D; CORRÊA, A. L. A.; PEREIRA, R. L. G. A história e o processo da produção da cerveja: uma revisão. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 37, n. 3, e26715, 25 nov. 2020. Disponível em: http://dx.doi.org/10.35977/0104-1096.cct2020.v37.26715. Acesso em: 11 nov. 2023.

QUEIROZ, G. de. **Setor cervejeiro no Brasil cresce quase 12% em 2022**. Agência Brasil, Brasília, 10 jul. 2023. Disponível em: https://agenciabrasil.ebc.com.br/economia/noticia/2023-07/setor-cervejeiro-no-brasil-cresce-quase-12-em-2022. Acesso em: 06 nov. 2023.

ROSA, N. A.; AFONSO, J. C. A química da cerveja. **Revista Química Nova**. São Paulo, v. 37, p. 98-105, 2015.

SANTOS, M. S. dos; RIBEIRO, F. de M. **Cervejas e refrigerantes**. São Paulo: CETESB, 2005. 58 p. (Série P + L). 1 CD. Disponível em: https://cetesb.sp.gov.br/consumosustentavel/wp-content/uploads/sites/20/2013/11/cervejas_refrigerantes.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2023.

SCHMIDELL, W. LIMA, U. A. AQUARONE, E. BORZANI, W. **Biotecnologia industrial: volume 1: fundamentos**. Editora Edgard Blücher LTDA. São Paulo-SP, 2001.

SILVA, H. A.; LEITE, M. A.; PAULA, A. R. V. de. Cerveja e sociedade. Contextos da Alimentação – **Revista de Comportamento, Cultura e Sociedade**, São Paulo, v. 4, n. 2, mar. 2016. Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF. Departamento de Nutrição.

Oisponível

em: https://www3.sp.senac.br/hotsites/blogs/revistacontextos/wp-content/uploads/2016/03/73_CA_artigo_revisado.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2023.

SOLA, M.C; OLIVEIRA, A. P; FEISTEL, J.C; REZENDE, C. S. M. Manutenção de micro-organismos: conservação e viabilidade — **Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer** - Goiânia, v.8, n.14 1399, 30 jun. 2012. Disponível em: < https://www.conhecer.org.br/enciclop/2012a/biologicas/manutencao.pdf>. Acesso em: 29 jun. 2024.

STANDAGE, T. **História do mundo em seis copos**, Rio de Janeiro: Jorge Zahar. 2005, 240p.

VENTURINI FILHO, W. G.; CEREDA, M. P. Cerveja. In: AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIMIDELL, W.; LIMA, U. A. **Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na Produção de Alimentos.** São Paulo: Edgard Blucher, 2001. 616p.

WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. Levedura: guia prático para a fermentação de cerveja. Tradução de Bianca Telini e Marcelo Menoncin. 1. ed. Porto Alegre: Editora Krater, 2020. 329 p. ISBN 978-65-991-651-1-5.

WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. Yeast: The Practical Guide to Beer Fermentation. Boulder: Brewers Publications, 2010. 304 p. ISBN 0-937381-96-9

XAVIER, C. M. da S.; XAVIER, A. L. C.; XAVIER, L. F. da S. **Gerenciamento de Projetos de Marketing: uma adaptação da metodologia Basic Methodware**. 1. ed. Rio de Janeiro: Brasport, 2019. 168 p. ISBN 978-85-7452-945-5.