



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

GABRIELA PORTELLA SILVA BATALHA

ESTUDO DA VIABILIDADE DA LEVEDURA CERVEJEIRA *Saccharomyces cerevisiae* EM RELAÇÃO AOS SEUS RE-INÓCULOS CONFORME O PROCESSO INDUSTRIAL

RECIFE

2025

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

GABRIELA PORTELLA SILVA BATALHA

ESTUDO DA VIABILIDADE DA LEVEDURA CERVEJEIRA *Saccharomyces cerevisiae* EM RELAÇÃO AOS SEUS RE-INÓCULOS CONFORME O PROCESSO INDUSTRIAL

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

Orientadora: Prof. Dra. Maria de Los Angeles Perez Fernandez Palha.

**RECIFE
2025**

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

Batalha, Gabriela Portella Silva.

Estudo da viabilidade da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em relação aos seus re-inóculos conforme processo industrial / Gabriela Portella Silva Batalha. - Recife, 2025.

61p : 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, 2025.

Inclui referências.

1. Consumo de glicose. 2. Fermentação alcoólica. 3. Produção de etanol. 4. Reutilização da *Saccharomyces cerevisiae*. 5. Viabilidade celular. I. Palha, Maria de Los Angeles Perez Fernandez. (Orientação). II. Título.

660 CDD (22.ed.)

GABRIELA PORTELLA SILVA BATALHA

ESTUDO DA VIABILIDADE DA LEVEDURA CERVEJEIRA *Saccharomyces cerevisiae* EM RELAÇÃO AOS SEUS RE-INÓCULOS CONFORME O PROCESSO INDUSTRIAL

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

Aprovado em: 11/08/2025

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **MARIA DE LOS ANGELES PEREZ FERNANDEZ**
Data: 18/08/2025 13:40:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

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

Documento assinado digitalmente
 **PEDRO FERREIRA DE SOUZA FILHO**
Data: 18/08/2025 16:17:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profº. Dr. Pedro Ferreira de Souza Filho (Examinador interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Documento assinado digitalmente
 **GISELY ALVES DA SILVA**
Data: 18/08/2025 13:43:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª. Dra. Gisely Alves da Silva (Examinadora interna)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor da minha fé que me sustenta diariamente com sua imerecida graça.

Ao meu marido por tamanha segurança, incentivo, paz, provisão e cuidado.

Ao meu filho por existir e me fazer ser melhor a cada dia.

Aos meus pais e meus avós por todo amor, suporte e incentivo nos meus estudos e em todas as etapas da minha vida.

Aos meus colegas de trabalho que me inspiraram a trabalhar com esse tema.

À minha incrível professora Orientadora Maria de Los Angeles por tanta paciência, incentivo, conhecimento passado e cuidado comigo.

À Universidade Federal de Pernambuco pelo conhecimento, treinamento e formação nesse curso e profissão incrível que muda e transforma a sociedade.

RESUMO

A cerveja é uma das bebidas fermentadas mais antigas da humanidade, com registros de produção que remontam a civilizações da Antiguidade, como Mesopotâmia, Egito e China. Ao longo dos séculos, sua fabricação evoluiu com o desenvolvimento de técnicas microbiológicas, principalmente após as descobertas de Louis Pasteur sobre a ação das leveduras no processo fermentativo. Com o avanço da biotecnologia, o controle da qualidade e o reaproveitamento de microrganismos tornaram-se estratégias sustentáveis e economicamente vantajosas para a indústria cervejeira. Este trabalho teve como objetivo avaliar a viabilidade do reuso da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em ciclos sucessivos de fermentação alcoólica. Foram realizados dez ciclos fermentativos utilizando meio YPD padronizado, e avaliados parâmetros como concentração celular, viabilidade por coloração com azul de metileno, produção de etanol por ebulliometria, liberação de CO₂ por variação de massa e consumo de glicose pelo método DNS. Os resultados revelaram que, até o quinto reuso, a levedura manteve viabilidade de 87% e desempenho fermentativo, com queda significativa a partir do sexto ciclo. A análise inicial da glicose indicou valores acima do esperado, atribuídos à presença de açúcares redutores secundários presentes no extrato de levedura e à interferência de compostos como furfural e 5-hidroximetilfurfural. A exclusão criteriosa de dados com grandes desvios contribuiu para a confiabilidade estatística. Conclui-se que a reutilização de leveduras é viável até seis ciclos consecutivos, podendo reduzir custos e impactos ambientais quando acompanhada por monitoramento microbiológico adequado. A pesquisa reforça a importância do controle de variáveis bioquímicas na condução de processos fermentativos eficientes e padronizados.

Palavras-chave: Consumo de glicose; Fermentação alcoólica; Produção de etanol; Reutilização da *Saccharomyces cerevisiae*; Viabilidade celular.

ABSTRACT

Beer is one of the oldest fermented beverages in human history, with records of production dating back to ancient civilizations such as Mesopotamia, Egypt, and China. Over time, beer brewing techniques evolved significantly, especially with the emergence of microbiology and Louis Pasteur's discoveries regarding the role of yeast in alcoholic fermentation. With biotechnological advances, the reuse of microorganisms became a sustainable and cost-effective strategy in modern brewing. This study aimed to evaluate the viability of *Saccharomyces cerevisiae* reuse over ten successive fermentation cycles. The yeast was cultivated in a standardized YPD medium, and several parameters were analyzed: cell concentration, viability via methylene blue staining, ethanol production through ebulliometry, CO₂ release via weight variation, and glucose consumption using the DNS method. The findings showed that yeast maintained viability of 87% and fermentation efficiency until the sixth reuse, with significant declines thereafter. Initial glucose readings were higher than expected, likely due to the presence of other reducing sugars in yeast extract and interference from compounds such as furfural and 5-hydroxymethylfurfural. The deliberate exclusion of outlier data ensured statistical reliability. The results suggest that yeast reuse is viable for up to six cycles, contributing to cost reduction and environmental sustainability when accompanied by proper microbiological monitoring. The study highlights the relevance of biochemical control in achieving consistent and efficient fermentation processes.

Keywords: Glucose consumption; Alcoholic fermentation; Ethanol production; *Saccharomyces cerevisiae* reuse; Cell viability.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1:	Ranking de consumo de cerveja por país em 2023	13
Figura 2:	Seis maiores países produtores de cerveja em 2024	13
Figura 3:	Estrutura molecular da co-humulona	27
Figura 4:	Leveduras <i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	29
Figura 5:	Fases de crescimento das leveduras	31
Figura 6:	Fluxograma do processo produtivo da cerveja	32
Figura 7:	Moinho de rolos industrial utilizado para moagem de malte em cervejarias	33
Figura 8:	Embalagem da levedura liofilizada <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> US-05, da marca Fermentis	38
Figura 9:	Reagentes utilizados na preparação do meio fermentativo	38
Figura 10:	Frascos Erlenmeyer contendo o meio fermentativo distribuído antes da esterilização	39
Figura 11:	Azul de metileno utilizado na coloração das amostras para análise de viabilidade celular	40
Figura 12:	Células vivas e mortas na Câmara de Neubauer	40
Figura 13:	Pesagem dos frascos antes e após a fermentação, utilizada para estimar a liberação de CO ₂ com base na variação de massa	41
Figura 14:	Ebuliômetro	41
Figura 15:	Amostra pós fermentação centrifugada para análise DNS	42
Figura 16:	Exemplo de Identificação dos tubos Falcon para análise de glicose	43

Figura 17:	Gráfico de células vivas ao longo dos ciclos de fermentação	45
Figura 18:	Produção de etanol ao longo dos ciclos	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Características principais de estilos clássicos de cerveja.....	24
Tabela 2:	Média de contagem de células/mL e viabilidade celular.....	44
Tabela 3:	Duplicatas da contagem de células e viabilidade.....	46
Tabela 4:	Variação da concentração de etanol.....	47
Tabela 5:	Dados da perda de massa.....	49
Tabela 6:	Análise DNS para avaliar glicose nos ciclos de reuso.....	51

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 OBJETIVO GERAL.....	15
1.1.1 Objetivos específicos	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 BREVE RECORTE HISTÓRICO DA CERVEJA	16
2.2 PRODUÇÃO DE CERVEJA NO MUNDO	19
2.3 PRODUÇÃO DE CERVEJA NO BRASIL	21
2.4 OS TIPOS DE CERVEJAS	22
2.5 MATÉRIA-PRIMA.....	25
2.5.1 Malte	25
2.5.2 Lúpulo	26
2.5.3 Água	27
2.5.4 Levedura	28
2.6 PROCESSO PRODUTIVO DA CERVEJA	31
3 MATERIAIS E MÉTODOS	37
3.1 REAGENTES E MATERIAIS BIOLÓGICOS	37
3.2 PREPARO E MEIO DE CULTURA	38
3.3 INOCULAÇÃO E CONDIÇÕES DE FERMENTAÇÃO	39
3.4 CONTAGEM DE CÉLULAS E VIABILIDADE CELULAR	39
3.5 QUANTIFICAÇÃO DE ETANOL E CO ₂	41
3.6 ANÁLISE DA CONCENTRAÇÃO DE GLICOSE RESIDUAL	42
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.1 CONTAGEM DE CÉLULAS E VIABILIDADE	44
4.3 LIBERAÇÃO DE CO ₂ POR VARIAÇÃO DE MASSA.....	49
4.4 ANÁLISE DAS CONCENTRAÇÕES DE GLICOSE RESIDUAL.....	51
5 CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO

A cerveja possui origens milenares, com registros de sua presença em civilizações antigas como as da China neolítica e da Mesopotâmia, onde teria surgido de forma acidental a partir da fermentação natural de grãos expostos a umidade e calor. Desde os primórdios, a bebida assumiu papel relevante não apenas como alimento, devido ao seu valor nutricional e similaridade com o pão, mas também como elemento de sociabilidade e moeda de troca entre diversos povos antigos (McGovern, 2010). Ao longo do tempo, especialmente a partir da Idade Média, a produção de cerveja passou por transformações significativas: deixou de ser uma prática exclusivamente doméstica e artesanal para tornar-se uma atividade comercial em expansão, favorecida pelo processo de urbanização, pela concentração de consumidores e pela organização de pequenos grupos de produção com fins lucrativos.

A consolidação da cerveja como um produto industrial foi possível graças ao avanço das técnicas de fermentação, sustentado por descobertas científicas que inauguraram a microbiologia moderna. Pioneiros como Anton van Leeuwenhoek e Antoine Lavoisier lançaram as bases para a compreensão científica do fenômeno. No século XIX, a comprovação de que a fermentação era causada por leveduras vivas e a identificação de agentes contaminantes permitiram avanços significativos no controle microbiológico da produção. O entendimento da fisiologia das leveduras e seu papel na fermentação alcoólica foi fundamental para o aprimoramento da estabilidade, eficiência e qualidade da cerveja em escala industrial (Walker; Stewart, 2016). De acordo com Bamforth (2009), foi a partir dessas descobertas que a produção de cerveja deixou de ser empírica, passando a adotar práticas baseadas em controle microbiológico, o que permitiu ganhos significativos em padronização e qualidade.

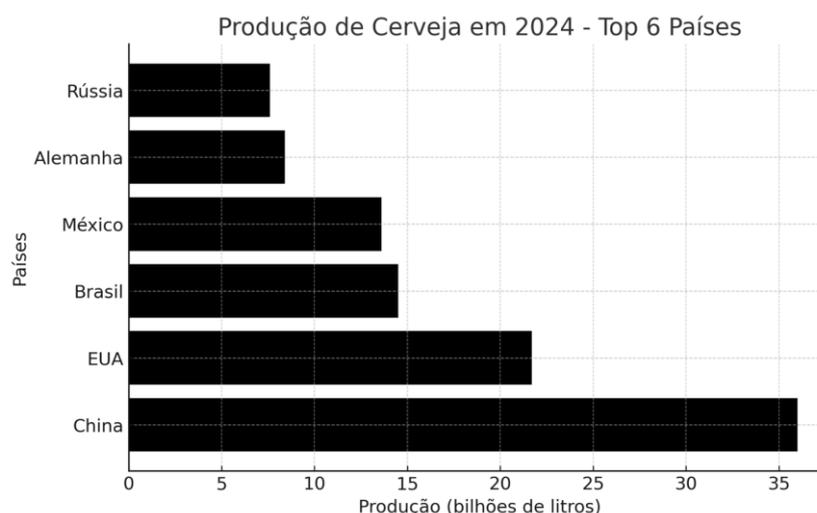
No Brasil, a introdução da cerveja remonta ao período colonial, quando era consumida exclusivamente pelas elites, devido ao monopólio português sobre sua importação. Esse cenário começou a se modificar com a abertura dos portos em 1808, possibilitando a entrada legal de produtos estrangeiros e favorecendo a chegada de imigrantes europeus, sobretudo alemães, que trouxeram consigo o conhecimento técnico e os costumes associados à produção da bebida. A fundação da Cervejaria Bohemia, em 1836, no Rio de Janeiro, marca o início da produção nacional de forma estruturada, embora ainda enfrentando limitações tecnológicas e climáticas. Durante

a Primeira Guerra Mundial, a escassez de matérias-primas importadas, como o malte e o lúpulo, forçou adaptações nas receitas, com a introdução de grãos como milho, arroz e trigo. A partir do final do século XIX e início do século XX, o avanço das técnicas industriais e a instalação de grandes cervejarias, como Brahma e Antarctica, impulsionaram a consolidação do setor, transformando a cerveja em um dos produtos mais populares e economicamente relevantes do país (Melo, 2018; Karls; Melo, 2018).

O consumo global de cerveja em 2023 foi estimado em aproximadamente 187,9 milhões de quilolitros, representando um aumento de 0,1% em relação ao ano anterior, sinalizando uma recuperação gradual após os impactos da pandemia de COVID-19. A Ásia permaneceu como a maior região consumidora, embora com uma leve retração de 0,6%, enquanto a América Central e do Sul apresentaram um crescimento de 1,7%, onde o Brasil registrou um aumento de 1,4% no volume consumido. Com esse desempenho, o Brasil consolidou-se como o terceiro maior consumidor de cerveja do mundo, atrás apenas da China e dos Estados Unidos, disposto no gráfico apresentado na Figura 1. Além disso, como visto na Figura 2, o país se destaca na produção, com uma estimativa de 15,4 bilhões de litros produzidos em 2023, reafirmando sua posição estratégica no cenário global da indústria cervejeira (Kirin Holdings Company, 2024). Esse aumento na produção e consumo global reflete a crescente demanda por cerveja e a necessidade de aprimorar continuamente os processos de fabricação para atender a esse mercado expansivo.

Figura 1 - Ranking de consumo de cerveja por país em 2023

Fonte: Adaptado de Kirin Holdings Company (2024).

Figura 2 - Seis maiores países produtores de cerveja em 2024

Fonte: Adaptado de BarthHaas Report 2024/2025 (2025).

No entanto, a produção de cerveja é um processo complexo, que envolve uma série de etapas essenciais para garantir a qualidade do produto final. Um dos fatores centrais neste processo é o papel das leveduras cervejeiras, responsáveis pela fermentação do mosto, convertendo os açúcares presentes em álcool e dióxido de carbono. O reuso das leveduras, prática comum na indústria, oferece vantagens econômicas e técnicas, como a redução de custos com a compra de novas culturas. Contudo, esse processo também apresenta desafios, principalmente em relação à viabilidade e concentração das células de levedura ao longo dos ciclos de

fermentação, o que pode impactar a eficiência do processo e a qualidade sensorial da cerveja (Stewart, 2009).

Embora o reuso de leveduras seja uma prática amplamente adotada, ainda existe uma lacuna significativa na literatura sobre os efeitos dessa prática nos diferentes ciclos de fermentação. Murmann *et al.* (2024) afirmam que a variabilidade na viabilidade e concentração das leveduras pode influenciar diretamente o rendimento da produção e a constância da qualidade do produto final. Nesse contexto, a análise detalhada desses parâmetros se torna fundamental para otimizar os processos de fermentação e garantir a consistência da cerveja, especialmente em um cenário de crescimento contínuo no consumo, como o observado no Brasil e em outras regiões.

Este estudo busca analisar a viabilidade e concentração das leveduras durante seus ciclos de reuso, com o objetivo de compreender como esses fatores influenciam a eficiência do processo fermentativo e a qualidade sensorial da cerveja. A pesquisa abordará análises microbiológicas e físico-químicas das leveduras em diferentes estágios de reuso, permitindo avaliar seu impacto no rendimento e nas características da cerveja produzida. A compreensão dos efeitos do reuso das leveduras é crucial para otimizar essa prática, garantindo não apenas a eficiência econômica da produção, mas também a manutenção da qualidade da cerveja, atendendo à crescente demanda global por produtos de alta qualidade.

A relevância deste estudo está no aumento da adoção do reuso de leveduras pela indústria cervejeira, tanto como uma estratégia de redução de custos quanto como uma contribuição para a sustentabilidade do processo produtivo. Para que os benefícios econômicos e ambientais sejam plenamente alcançados, é essencial entender profundamente os impactos do reuso na viabilidade das leveduras, evitando que a qualidade da cerveja seja comprometida. Assim, a pesquisa se divide em quatro capítulos, abordando desde a revisão bibliográfica sobre as leveduras e a fermentação, até os métodos e resultados da análise das leveduras, culminando nas conclusões e recomendações para a prática industrial, além de sugestões para futuras investigações no campo.

1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a viabilidade celular e a concentração de leveduras cervejeiras ao longo de ciclos consecutivos de reuso, com o intuito de compreender os impactos microbiológicos na eficiência fermentativa e na qualidade do produto final.

1.1.1 Objetivos específicos

- Quantificar a concentração de células viáveis e não viáveis em amostras de levedura ao longo de diferentes ciclos de reuso (*repitching*);
- Analisar a viabilidade das leveduras por meio de testes laboratoriais, visando determinar a aptidão fermentativa após cada reutilização;
- Avaliar o impacto do número de reutilizações na performance fermentativa (tempo de fermentação, produção de CO₂ e álcool);
- Monitorar parâmetros de qualidade da cerveja (como teor alcoólico), relacionados diretamente à viabilidade das leveduras reutilizadas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A produção de cerveja envolve uma combinação entre tradição histórica, avanços tecnológicos e conhecimentos científicos, especialmente nas áreas da microbiologia e da bioquímica. Com raízes milenares, essa bebida passou por inúmeras transformações ao longo do tempo, incorporando técnicas que aprimoraram sua qualidade, estabilidade e diversidade de estilos. No contexto contemporâneo, o estudo da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e sua reutilização durante os ciclos fermentativos ganha destaque, sobretudo em razão do impacto direto na eficiência do processo e nas características finais do produto. Compreender os fundamentos históricos, tecnológicos e microbiológicos da produção cervejeira é essencial para contextualizar a pesquisa sobre o reuso de leveduras e os parâmetros associados à sua viabilidade e desempenho fermentativo.

2.1 BREVE RECORTE HISTÓRICO DA CERVEJA

Os primeiros indícios da cerveja foram encontrados na vila neolítica de Jiahu (norte da China) e com os povos sumérios, na Mesopotâmia, surgindo de forma acidental, segundo os estudos, onde agricultores perceberam que grãos expostos à umidade e calor fermentavam. Os agricultores, por volta do ano 9.000 a.C., armazenavam os grãos coletados em vasos e, provavelmente, a chuva tenha umedecido essa colheita. Após a secagem, foi percebido que o sabor dos grãos maltados era bom, diferente do que já haviam provado e adocicado, surgindo assim os primeiros indícios da cerveja na história da humanidade (McGovern *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2021).

A cerveja tornou-se não só uma bebida essencial na Antiguidade, como também um alimento, pela sua facilidade de produção, sabor e nutrição, além de compartilhar ingredientes fáceis de produzir e semelhantes aos do pão. Para além de ser um produto voltado para a área gastronômica, a cerveja também teve um papel fundamental para a sociedade, pois era uma bebida consumida pela população que tinha como função social trazer alegria e, ao mesmo tempo, era utilizada como moeda de troca. Nota-se a versatilidade da cerveja perpassando por períodos importantes da história da humanidade (Liu *et al.*, 2016).

Conforme Unger (2013), entre os séculos XII e XIII, a urbanização nas cidades europeias transformou a produção de cerveja de uma prática artesanal doméstica para uma atividade comercial, regulada pelas autoridades urbanas. A cerveja tornou-se predominante no consumo urbano, sendo mais segura que a água e mais acessível que o vinho, tornando-se também uma importante fonte de arrecadação fiscal. Esse avanço impulsionou a busca por melhorias no processo produtivo, especialmente no controle da fermentação, que por muitos séculos foi empírico e dependente de fatores ambientais.

Somente no final do século XVII, com as primeiras observações microscópicas de Antoni van Leeuwenhoek, a microbiologia revelou a natureza da fermentação. No século XIX, com os estudos de Schwann, Pasteur e Hansen, a ciência das leveduras foi consolidada, permitindo o desenvolvimento de técnicas de cultivo puro e controle microbiológico, tornando a cerveja um produto padronizado e de alta qualidade (Meußdoerffer; Zarnkow, 2014).

Anton van Leeuwenhoek (1632–1723) foi o pioneiro na observação de leveduras, utilizando microscópios artesanais para examinar líquidos. Antoine Laurent de Lavoisier (1743–1794), por sua vez, descreveu o processo de fermentação alcoólica no final do século XVIII, contribuindo para o entendimento da transformação de açúcares em álcool e gás carbônico (Science History Institute, 2025). Finalmente, em 1860, Louis Pasteur estabeleceu a relação entre a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e a fermentação, comprovando que micro-organismos eram responsáveis pela produção de etanol, o que fundamentou a microbiologia moderna (Maicas, 2020).

No Brasil, o consumo de cerveja começou no período colonial, por volta do ano de 1500, onde a cerveja foi introduzida com os primeiros colonizadores portugueses, estabelecendo o monopólio sobre o comércio da cerveja no Brasil, importada de Portugal e de países aliados, sendo consumida apenas pela elite portuguesa e os imigrantes, pois não havia uma produção local significativa durante esses primeiros séculos do período colonial, para não influenciar no monopólio já estabelecido, forçando o contrabando da cerveja por parte da população com baixo poder aquisitivo, através das cidades do Recife, Rio de Janeiro e Salvador (Rosalin, 2021).

Apenas em 1808, com a chegada da família real portuguesa, ocorreu a abertura dos portos brasileiros para navios estrangeiros, favorecendo o comércio de forma legal da cerveja dentro do Brasil, principalmente por parte dos imigrantes advindos da Alemanha que, segundo Rosalin (2021), colocou a bebida em posição de destaque

na província do Rio Grande do Sul, estendendo em algumas cidades em Santa Catarina, Rio de Janeiro e São Paulo. Com o fim do monopólio português, Henrique Kremer, um imigrante alemão, fundou em 1836, no Rio de Janeiro, a primeira cervejaria artesanal registrada no Brasil, a Bohemia, introduzindo tecnologias europeias de produção. Na época, o país enfrentava condições climáticas desfavoráveis, como o calor excessivo, que dificultava o controle da fermentação e a conservação da bebida, além de limitações técnicas, como a ausência de maquinário moderno e a escassez de conhecimento especializado sobre o processo cervejeiro — predominante na Europa. Esses fatores retardaram o desenvolvimento do setor e impactaram a qualidade do produto final (Silva; Leite; Paula, 2016; Santos, 2004).

Durante o período inicial da Cervejaria Bohemia, a produção de cerveja era caracterizada por processos manuais e em pequena escala, voltados para atender às demandas locais, seguindo métodos tradicionais com ênfase na qualidade e no uso de ingredientes importados como malte e lúpulo. No entanto, o controle de fermentação e armazenagem ainda era primitivo devido à ausência de inovações tecnológicas, o que frequentemente comprometia a qualidade do produto e limitava a capacidade de produção em larga escala (Melo, 2018; Melo; Karls, 2018).

Muito antes da Primeira Guerra Mundial, em 1860, novas cervejarias foram surgindo e houve um aumento significativo na produção da bebida. Porém, durante a primeira guerra, houve uma grande escassez da base cervejeira, malte e lúpulo, que eram importados da Alemanha e Áustria, dificultando a disponibilidade desses ingredientes no Brasil (Silva; Leite; Paula, 2016).

Isso resultou em um movimento que levou vários cervejeiros a testar e se aventurar na produção da cerveja com outros ingredientes como milho, trigo e arroz. Com essas dificuldades, somadas ao armazenamento e controle de fermentação que eram precários, a produção possuía uma grande variação de pressão e, para lidar com esse desafio, as rolhas das garrafas eram amarradas com barbante, dando origem assim a marca conhecida como “Barbante”, na cidade de Juiz de Fora, em Minas Gerais (Silva; Leite; Paula, 2016).

Durante os anos 1870 e 1880, a industrialização cervejeira no Brasil, especialmente no Rio Grande do Sul, foi impulsionada pela presença de imigrantes alemães que trouxeram conhecimentos técnicos e fundaram as primeiras fábricas comerciais. A Cervejaria Ritter, estabelecida em 1868 em Linha Nova, é considerada a primeira do estado. Já em Porto Alegre, a produção industrial emergiu com a

cervejaria de Friedrich Christoffel em 1873, seguida por empreendimentos de famílias como os Sassen e Kauffmann, fundada por volta de 1878 (Pesavento,2019). Para esse grande avanço industrial no Brasil, foi o surgimento das primeiras máquinas compressoras frigoríficas no Rio de Janeiro e São Paulo, possibilitando a criação de gelo e impactando diretamente no controle de temperatura no processo de fermentação (Rosalin, 2021). Esse avanço tecnológico foi essencial para a padronização e qualidade da bebida produzida em larga escala. Segundo Morado (2011), o surgimento dessas cervejarias industriais esteve fortemente ligado à presença de imigrantes alemães no Brasil, que trouxeram conhecimentos técnicos e impulsionaram o desenvolvimento da cultura cervejeira no país. Da mesma forma, Silva (2016) destaca que a chegada de equipamentos mais modernos e a urbanização das grandes cidades facilitaram a estruturação de um mercado consumidor para a cerveja, tornando-a uma das bebidas alcoólicas mais consumidas entre as classes médias emergentes no final do século XIX.

Dessa forma, a produção de cerveja no Brasil foi aperfeiçoada, garantindo uma maior segurança e qualidade do produto, expandindo a produção em grande escala para outras regiões do Brasil (Silva *et al.*, 2016). Nessa mesma época, segundo Rosalin (2021), duas empresas importantes foram fundadas: a Companhia Antártica Paulista, em São Paulo, em 1885, e a Cervejaria Brahma, no Rio de Janeiro, em 1888. Essas empresas viriam a se fundir no futuro, dando origem à AB InBev, que atualmente é a empresa com o maior número de marcas de cerveja no mundo.

2.2 PRODUÇÃO DE CERVEJA NO MUNDO

O mercado global de cerveja tem passado por transformações significativas, impulsionadas por fatores culturais, econômicos e mudanças no comportamento do consumidor. Em 2023, a produção de cerveja na União Europeia atingiu 34,3 bilhões de litros, com uma leve queda de 5% na produção de cervejas alcoólicas em comparação ao ano anterior. No entanto, o segmento de cervejas sem álcool registrou um crescimento de 13,5%, evidenciando uma busca crescente por alternativas com menor teor alcoólico e menos calorias (Eureporter, 2024). Esse fenômeno reflete uma conscientização maior sobre saúde e bem-estar, um padrão observado também em mercados como Estados Unidos e Japão.

Em termos de produção global, a China lidera como o maior produtor de cerveja, seguida pelos Estados Unidos e Brasil. Na Europa, a Alemanha ocupa a

primeira posição, com 7,2 bilhões de litros produzidos em 2023, representando 22,3% do total da União Europeia. Espanha e Países Baixos aparecem em seguida, com 4,0 bilhões e 2,4 bilhões de litros, respectivamente. Além disso, os Países Baixos se destacam como o maior exportador de cerveja alcoólica da Europa, respondendo por 21,5% das exportações da região (Eurostat, 2025).

Quando se trata de consumo, a China também lidera como o maior mercado consumidor de cerveja, seguida pelos Estados Unidos, Brasil e Alemanha. A preferência dos consumidores tem se diversificado, com um crescimento expressivo do segmento de cervejas artesanais e *premium*, impulsionado pelo interesse por sabores exclusivos e ingredientes naturais. Nos Estados Unidos, por exemplo, as cervejas artesanais representam cerca de 25% do mercado total (KPMG, 2023).

As grandes cervejarias do mundo dominam uma parcela significativa do mercado. Entre as maiores empresas do setor estão a AB InBev, Heineken, Carlsberg e China Resources Beer. A AB InBev, detentora de marcas como Budweiser, Stella Artois e Corona, lidera o setor, com uma fatia de aproximadamente 25% do mercado global. A Heineken, segunda maior cervejaria, tem expandido sua presença nos mercados emergentes, investindo em inovação e no segmento de cervejas sem álcool (Statista, 2024).

Além dos desafios de mercado, a indústria cervejeira enfrenta obstáculos logísticos importantes. A cerveja é uma bebida perecível que exige condições específicas de armazenamento e transporte para preservar seu sabor e qualidade. Para lidar com essas questões, grandes cervejarias têm investido em tecnologia para otimizar a cadeia de suprimentos, incluindo a adoção de sistemas de rastreamento digital e transporte refrigerado mais eficiente. O avanço da automação nas fábricas também tem sido uma tendência crescente, contribuindo para uma maior eficiência operacional e redução de custos (KPMG, 2023).

Com um cenário de constante evolução, o mercado global de cerveja se adapta às novas demandas dos consumidores e aos desafios logísticos e econômicos. A busca por inovação, sustentabilidade e eficiência nas cadeias produtivas tem sido essencial para a competitividade das grandes marcas, enquanto as cervejarias artesanais continuam ganhando espaço ao oferecer produtos diferenciados e de alto valor agregado.

2.3 PRODUÇÃO DE CERVEJA NO BRASIL

O setor cervejeiro brasileiro tem registrado crescimento contínuo, consolidando-se como uma das atividades econômicas mais relevantes do país. Em 2022, o número de cervejarias em operação aumentou 11,6%, chegando a um total de 1.729 estabelecimentos. Esse avanço foi impulsionado pela ampliação da presença dessas empresas em diversas regiões do Brasil, com destaque para o Sudeste, onde se concentra quase metade dos empreendimentos do setor (Brasil, 2023).

O Brasil ocupou a terceira posição no *ranking* global de produção de cerveja, ficando atrás apenas da China e dos Estados Unidos. Em 2023, o volume de vendas da bebida no mercado nacional alcançou 16,1 bilhões de litros, um crescimento de 4,5% em comparação ao ano anterior. Esse desempenho reforça a competitividade do setor tanto no mercado interno quanto na indústria cervejeira global. Em 2023, o Brasil produziu mais de 15 bilhões de litros de cerveja, mantido como o 3º maior produtor mundial, segundo dados oficiais do (Ministério de Agricultura e Pecuária, 2023). Além disso, relatórios como o BarthHaas e da Euromonitor confirmam esse desempenho e mostram a robustez da produção nacional no contexto global (BarthHaas, 2024; Euromonitor, 2024).

Além da sua relevância econômica, a produção de cerveja impacta diretamente o mercado de trabalho, gerando mais de dois milhões de empregos diretos e indiretos. A cadeia produtiva do setor, que inclui desde o cultivo de matérias-primas até a comercialização do produto final, contribui significativamente para o desenvolvimento econômico do país, representando cerca de 2% do Produto Interno Bruto (PIB) nacional (Brasil; SINDICERV, 2024).

Outro fator que evidencia a evolução do setor cervejeiro é sua capacidade de inovação e diversificação. O número de novos produtos registrados apresentou um aumento expressivo de 19,8% em 2022, refletindo o amadurecimento da indústria, sobretudo no segmento de cervejas artesanais. A diversidade de estilos e ingredientes utilizados nas formulações vem ampliando as opções disponíveis ao consumidor, contribuindo para a valorização do mercado nacional (Ministério de Agricultura e Pecuária, 2023).

A cerveja sem álcool, por exemplo, tem mostrado um crescimento notável no Brasil, com projeções indicando que, até 2026, o volume de vendas pode ultrapassar

1,1 bilhão de litros, uma evolução significativa em relação aos 133 milhões de litros registrados em 2018. Para 2025, espera-se que o mercado atinja cerca de 983 milhões de litros, ante 752,5 milhões no ano de 2024. Esse avanço se deve principalmente a investimentos na modernização da produção, que agora incorpora tecnologias que garantem sabores próximos aos das versões alcoólicas, permitindo a criação de alternativas para aqueles que desejam reduzir ou evitar o consumo de álcool, como em refeições ao longo da semana (SINDICERV, 2025).

No cenário internacional, o Brasil exportou cerveja para 79 países em 2022, sendo que a América do Sul foi responsável por 98,4% do volume total enviado ao exterior. No entanto, houve uma redução de 16,8% na quantidade exportada em comparação a 2021, embora o preço médio da cerveja brasileira tenha se valorizado em 9,1% no mercado global. Esse resultado pode estar relacionado a desafios logísticos e variações econômicas que influenciam o comércio exterior da bebida (IBGE, 2023; ApexBrasil, 2023).

Já em relação às importações, observou-se uma queda de 19,1% na quantidade de cerveja adquirida do exterior, o que pode indicar um aumento na oferta de produtos nacionais e na competitividade do mercado interno. Esse cenário reforça a consolidação da indústria cervejeira brasileira, que vem ampliando sua participação e fortalecendo a produção local por meio da diversificação e da valorização de ingredientes e técnicas produtivas nacionais (Ministério de Agricultura e Pecuária, 2023).

2.4 OS TIPOS DE CERVEJAS

A cerveja pode ser classificada com base em diferentes critérios, incluindo o tipo de fermentação, o teor alcoólico, o extrato primitivo e a cor. Quanto à fermentação, existem dois principais tipos: a alta fermentação (Ale), em que as leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) emergem à superfície durante o processo fermentativo, e a baixa fermentação (Lager), onde as leveduras (*Saccharomyces uvarum*) se depositam no fundo do tanque ao longo ou após a fermentação tumultuosa (Abreu; Vieira; Ferreira, 2009).

Dentre os estilos de cerveja mais conhecidos, destacam-se a Pilsen, originária da cidade de Pilsen, na República Tcheca, caracterizada por sua coloração clara, médio teor alcoólico (3-5%) e fermentação por leveduras de baixa fermentação. A

Bock, de origem alemã, apresenta coloração escura, teor alcoólico (6-7%) e extrato primitivo superior a 14%, sendo tradicionalmente produzida durante a primavera e outono. A Malzbier, também de origem alemã, é conhecida por sua coloração escura, devido à utilização de maltes especiais como o caramelizado, tostado ou maltes escuros, e alto teor nutritivo, sendo tradicionalmente associada ao aumento da produção de leite materno (Beer Judge Certification Program, 2021).

A Stout, originária da Irlanda, é elaborada com maltes escuros e extrato primitivo de aproximadamente 15%, resultando em uma cerveja escura, teor alcoólico (4-8%), podendo chegar até 12% de teor alcoólico dependendo da versão, e sabor que equilibra o amargor do lúpulo com o dulçor do malte. Já a Dortmunder, típica da cidade alemã de Dortmund, apresenta características semelhantes à Pilsen, porém com influências da água local de alta dureza, resultando em um produto de médio teor alcoólico e extrato (Abreu; Vieira; Ferreira, 2009).

Outros estilos importantes incluem a Porter, originária da Inglaterra, elaborada com maltes escuros e podendo apresentar fermentação alta ou baixa, além de fermentação na garrafa. A Weissbier, tradicional da Alemanha, é elaborada com malte de trigo e cevada, possuindo coloração clara e fermentação alta. A München, produzida em Munique, destaca-se pelo uso de malte tipo Munique e fermentação de baixa temperatura, originando uma cerveja de coloração escura e médio teor alcoólico. Por fim, a Ale, também de origem alemã, apresenta coloração avermelhada, alta fermentação e teor alcoólico que varia de médio a alto (Abreu; Vieira; Ferreira, 2009).

As principais características desses e de outros estilos clássicos de cerveja, como tipo de fermentação, extrato original, teor alcoólico e coloração, podem ser consultadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Características principais de estilos clássicos de cerveja

Estilo	Fermentação	Extrato Original (°Plato)	Cor (EBC)	Teor Alcoólico (%)	Observações
Pilsen	Baixa	11–12	6–12	4,2–5,2	Leve, clara, muito popular
Porter	Alta	12–16	50–100	4,5–6,5	Escura, sabores tostados
Stout	Alta	13–18	80–150	5–8	Escura, café, chocolate
Weissbier	Alta	11–14	6–15	4,5–5,5	Com trigo, turva, frutada
München Dunkel	Baixa	11–13	30–50	4,5–5,5	Escura, maltada
Helles	Baixa	11–12	6–12	4,7–5,4	Clara, suave, maltada
Ale	Alta	12–14	10–30	4,5–6	Frutada, lúpulo presente
IPA	Alta	13–18	15–40	5,5–7,5	Amarga, muito lupulada
Bock	Baixa	16–18	40–80	6,3–7,2	Escura, doce, alcoólica
Tripel	Alta	17–21	8–20	7,5–9,5	Clara, seca, teor alcoólico elevado
Dubbel	Alta	16–18	40–80	6–7,5	Escura, frutada, alcoólica
Lambic	Espontânea	11–12	6–20	4–6,5	Ácida, fermentação espontânea
Saison	Alta	12–16	10–25	5,5–8	Rústica, refrescante

Fonte: Adaptado de Beer Judge Certification Program (2021); Kunze (2004); Bamforth (2009).

Além da classificação por estilo, a cerveja também pode ser categorizada de acordo com o extrato primitivo, que representa o somatório das substâncias solubilizadas antes da fermentação. De acordo com a legislação brasileira, a cerveja leve apresenta extrato primitivo entre 5,0% e 10,5%, a cerveja comum possui extrato entre 10,5% e 12,5%, a cerveja extra varia de 12,5% a 14,0% e a cerveja forte apresenta extrato original superior a 14%. Outra forma de classificação se dá pela cor, sendo a cerveja clara aquela que possui menos de 20 unidades EBC (European Brewery Convention), enquanto as cervejas escuras apresentam valores iguais ou superiores a essa medida (Brasil, 2001).

O teor alcoólico também é fator de diferenciação nas categorias de cerveja. Segundo a legislação brasileira, cerveja sem álcool possui teor alcoólico inferior a 0,5% em volume; já a cerveja com álcool deve ter essa informação declarada e pode ser classificada como de baixo teor alcoólico (mais de 0,5% até 2,0%), médio teor alcoólico (mais de 2,0% até 4,5%) ou alto teor alcoólico (mais de 4,5% até 7,0%) (Brasil, 2014).

Com relação ao uso de malte, a legislação define cerveja puro malte como aquela cuja fonte de açúcares do extrato primitivo provém 100% de malte de cevada, em peso. A designação cerveja com proporção de malte é utilizada quando a

proporção de malte de cevada é maior ou igual a 50%, e a denominação referente ao vegetal predominante é permitida quando essa proporção está entre 20% e 50% (Brasil, 2001).

2.5 MATÉRIA-PRIMA

As matérias-primas utilizadas no processo de produção de cerveja passaram por diversas modificações ao longo da história, influenciadas tanto pelas inovações tecnológicas quanto pela disponibilidade de ingredientes em cada período. No Brasil, entre 1860 e a Segunda Guerra Mundial, a escassez de insumos essenciais como malte e cevada, que eram predominantemente importados, obrigou os cervejeiros a adaptarem suas receitas; para garantir a continuidade da produção, recorreram ao uso de grãos alternativos como arroz, milho e trigo; embora esses substitutos tenham permitido a manutenção da produção, resultaram em alterações significativas na qualidade da cerveja, impactando seus sabores, cores e texturas (Silva *et al.*, 2016). Os insumos básicos nos tempos atuais para a produção da cerveja são o malte, lúpulo, água e levedura.

2.5.1 Malte

O malte é um insumo derivado da cevada por meio do processo de malteação, que consiste em germinar o grão sob condições controladas e interromper o processo de germinação no momento adequado, antes que o grão inicie a formação de uma nova planta. Durante esse processo, o amido presente no grão é quebrado em cadeias menores, em comparação ao amido original da cevada, tornando-se mais solúvel e menos resistente à degradação enzimática. Isso facilita os processos subsequentes da fabricação da cerveja, nos quais enzimas presentes no próprio grão irão quebrar esse amido e transformá-lo em açúcares fermentáveis (Bokulich; Bamforth, 2013). As enzimas de maior relevância presentes no malte são as enzimas degradadoras de amido: α -amilase, β -amilase e dextrinase (Kunze, 2006).

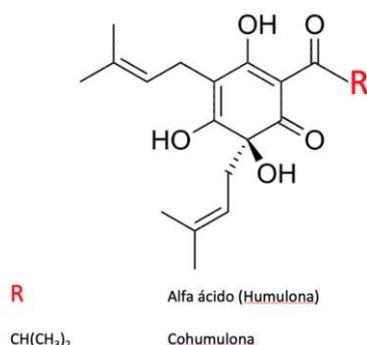
Além de fornecer os açúcares fermentáveis para a produção da cerveja uma outra função do malte é fornecer cor e sabor à bebida, além de influenciar o processo de produção de espuma, o corpo da cerveja e ser um componente essencial na clarificação do mosto por meio das cascas dos grãos moídos (Morado, 2017).

2.5.2 Lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é um ingrediente da cerveja extraído de plantas trepadeiras, são utilizadas as inflorescências da planta feminina que tem como função dentro do processo de produção das cervejas, conferir os aromas típicos e trazer amargor através de suas resinas amargas e óleos etéreos, sendo possível a combinação entre lúpulos para misturar diferentes formas de aroma e amargor para cada produção de cerveja (Kunze, 2004). O lúpulo é considerado o tempero da cerveja, onde os mestres cervejeiros se utilizam de variadas quantidades, tipos e até combinações de lúpulo tornando cada cerveja única em sabor, aroma e amargor (Rabello, 2009).

O lúpulo é uma planta típica de clima frio, com cultivo consolidado em países europeus e nos Estados Unidos. No Brasil, para garantir a conservação de suas propriedades e facilitar o transporte, os lúpulos são frequentemente importados em pellets. Contudo, a produção nacional vem crescendo desde 2018, com iniciativas como a do Grupo Petrópolis, que cultiva variedades como Cascade, Chinook, Zeus, Comet e Triple Pearl em Teresópolis (Forbes Agro, 2022). O uso dessas variedades adaptadas permite a oferta de insumos locais com identidade brasileira e reduz a dependência de importações.

Os compostos presentes no lúpulo, especialmente os alfa-ácidos e beta-ácidos, desempenham um papel fundamental na composição e nas características sensoriais da cerveja. Os alfa-ácidos, que incluem humulona, co-humulona e ad-humulona como visto na Figura 3, são os principais responsáveis pelo amargor da bebida. Durante o processo de fervura do mosto, esses compostos sofrem isomerização, convertendo-se em iso-alfa-ácidos, que conferem o amargor característico à cerveja, equilibrando a doçura e a acidez provenientes do malte. Exemplos de lúpulos com alto teor de alfa-ácidos incluem o Magnum, o Columbus, o Chinook e o Nugget, amplamente utilizados na produção de cervejas com perfil amargo acentuado (Kunze, 2004; Pinto, 2008).

Figura 3 - Estrutura molecular da co-humulona

Fonte: Adaptado de Leker e Maye (2022).

Por outro lado, os beta-ácidos, compostos por lupulona, co-lupulona e ad-lupulona, possuem menor contribuição para o sabor da cerveja, mas desempenham um papel essencial na estabilidade e conservação da bebida. Sua ação bactericida auxilia na preservação da cerveja, garantindo sua qualidade sensorial ao longo do tempo. Dessa forma, o lúpulo não apenas confere amargor e aroma à cerveja, mas também contribui para sua longevidade e estabilidade microbiológica (Motta; Bernardes, 2022; Steenackers; Cooman; De Voz, 2015).

2.5.3 Água

A água é a principal matéria-prima da cerveja em termos quantitativos, sendo utilizada tanto em sua composição quanto em diversas etapas do processo produtivo, como limpeza e enxágue. O alto custo para garantir a qualidade da água torna esse recurso um fator determinante na escolha da localização de muitas indústrias cervejeiras. Para assegurar sua qualidade, a água deve ser constantemente monitorada quanto aos aspectos sensoriais, físico-químicos, microbiológicos e químicos, uma vez que sua pureza está diretamente relacionada à qualidade final da cerveja (Kunze, 2004).

A água utilizada na fabricação de cerveja pode apresentar variações em sua composição ao longo do tempo, sendo essencial a aplicação de processos de tratamento para garantir sua qualidade e conformidade com os parâmetros exigidos. Para a produção cervejeira, a água deve ser isenta de contaminantes, proporcionando um ambiente adequado para o crescimento das leveduras. Além disso, deve possuir alta transparência e não apresentar odores ou sabores indesejáveis, assegurando a

pureza necessária para a obtenção de um produto final de qualidade (Goldammer, 2008).

A chamada água cervejeira, ou água nobre, deve apresentar características específicas para que seja compatível com os requisitos da produção. De acordo com Kunze (2004) e Goldammer (2008), os parâmetros ideais incluem pH entre 6,5 e 8,0, baixa turbidez (inferior a 0,4 NTU), ausência de cloro e matéria orgânica, bem como equilíbrio mineral adequado. A composição iônica da água — especialmente a proporção entre sulfatos e cloretos — exerce influência direta no perfil sensorial da cerveja, impactando características como amargor, corpo e doçura.

O cálcio (Ca^{2+}) e o magnésio (Mg^{2+}), por exemplo, contribuem para a dureza da água, sendo importantes para a estabilidade das proteínas e para o desempenho das enzimas na mosturação. O cálcio também ajuda a reduzir o pH do mosto, promovendo um ambiente ideal para a atividade enzimática. Já os sulfatos (SO_4^{2-}) intensificam a percepção de amargor, enquanto os cloretos (Cl^-) reforçam a sensação de corpo e suavidade. Dessa forma, a água ideal varia conforme o estilo da cerveja a ser produzida (Palmer, 2021).

Essa relação entre o tipo de água e estilo de cerveja é observada historicamente em diferentes regiões do mundo. A cidade de Pilsen, na República Tcheca, possui água branda, o que favoreceu a criação das Pilsners. Em Burton-on-Trent, na Inglaterra, a água rica em sulfato de cálcio foi essencial para o desenvolvimento das India Pale Ales (IPAs). Já em Dublin, na Irlanda, a água rica em bicarbonatos contribuiu para a produção das Stouts, equilibrando a acidez dos maltes torrados (Goldammer, 2008).

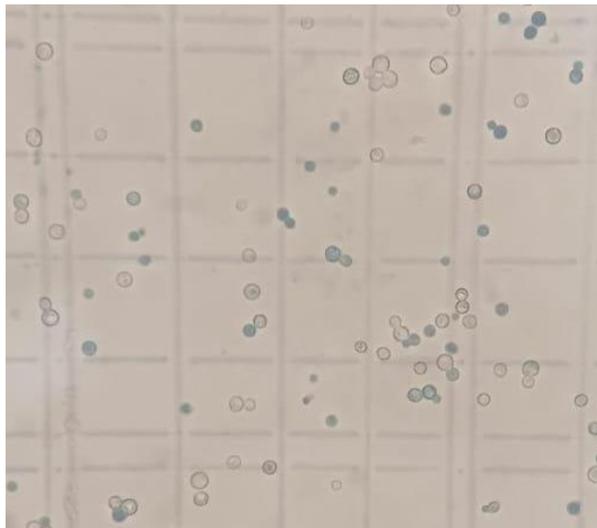
Além disso, em função das características locais da água, muitos cervejeiros realizam a correção mineral por meio da adição de sais, como sulfato de cálcio (CaSO_4) e cloreto de cálcio (CaCl_2), ajustando assim o perfil da água à receita e ao estilo desejado. A literatura atual reforça que a qualidade da água influencia desde o desempenho das leveduras até a formação da espuma e a estabilidade da cerveja armazenada (Punčochářová *et al.*, 2019).

2.5.4 Levedura

As leveduras são microorganismos vivos pertencentes ao grupo dos fungos unicelulares, amplamente utilizados em diversos processos industriais em função da sua adaptabilidade e capacidade de realizar fermentações eficientes. A fermentação

alcoólica, dentre as aplicações mais importantes, é utilizada para produzir etanol, dióxido de carbono e compostos aromáticos, sendo essencial na fabricação de pães, bebidas alcoólicas, vinagre, biocombustíveis e produtos fermentados como kefir e kombucha (Borzani; Lima; Aquarone, 2001). Na Figura 4, pode-se observar sua morfologia.

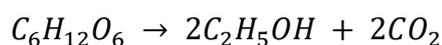
Figura 4 - Leveduras *Saccharomyces cerevisiae*



Fonte: Autora (2025).

Na produção de cerveja, a fermentação representa uma etapa crucial, pois é nesta fase que ocorre a produção do álcool, bem como a formação de compostos voláteis que conferem aroma e sabor característicos ao produto final. A eficiência fermentativa depende diretamente da vitalidade da cultura de levedura e das condições ambientais oferecidas ao micro-organismo (Gibson *et al.*, 2007; Borzani *et al.*, 2021)

As leveduras são as responsáveis pela transformação dos açúcares do mosto em álcool e gás carbônico como mostra a equação a seguir:



Não somente na transformação de açúcar em álcool e gás carbônico a levedura se destaca, mas também na sua contribuição com aroma, sabor, cor, turbidez, formação de espuma, ou seja, a qualidade final da cerveja depende do tipo de levedura, de sua viabilidade, eficiência e qualidade. As leveduras mais utilizadas

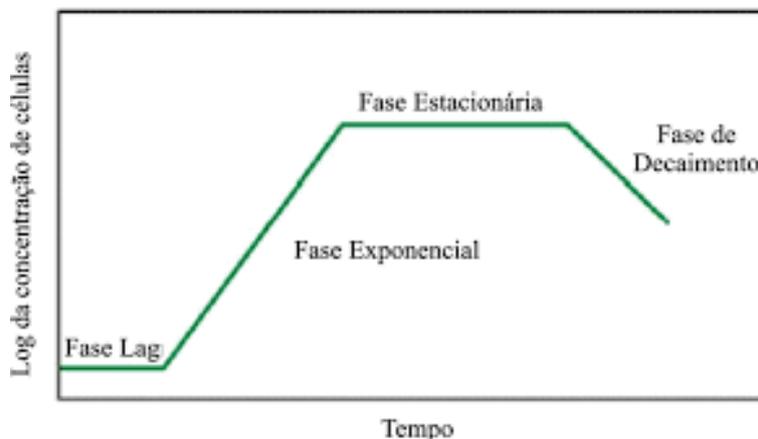
no processo cervejeiro são as do gênero *Saccharomyces*, com a sua classificação baseada em como se comporta nos tanques de fermentação como também na temperatura desse processo, sendo leveduras de alta fermentação (cervejas do tipo Ale), atuando com temperaturas que variam de 14°C a 25°C, e predominantemente na superfície do mosto, como exemplo a *Saccharomyces cerevisiae*, e leveduras de baixa fermentação (Cervejas do tipo lager), atuando com temperatura que varia de 4°C a 12°C e atuando predominantemente no fundo do fermentador, exemplo a *Saccharomyces pastorianus* (Lima; Schuina; Bianchi, 2024).

Para se ter um melhor controle do processo fermentativo, entender o comportamento das leveduras, conhecer a sua viabilidade, monitorar parâmetros como temperatura e pressão resultará em um melhor rendimento na produção cervejeira e em um produto final de maior qualidade (Lima; Schuina; Bianchi, 2024).

A disponibilidade de nutrientes para a levedura no processo de fermentação também deve ser avaliada, pois é necessária uma cultura adequada para um bom crescimento dessas células e produção adequada do álcool, como o nitrogênio, vitaminas e minerais. A falta desses nutrientes atrapalha a fermentação tornando incompleta ou abaixando a qualidade do produto final (Gobbi *et al.*, 2020).

O crescimento das leveduras durante a fermentação cervejeira ocorre em três fases distintas: latência, exponencial e estacionária. Na Figura 5, é possível observar de forma dinâmica essas etapas. Na fase de latência, as células adaptam-se ao ambiente do mosto, sintetizando enzimas e transportadores necessários para metabolizar os açúcares disponíveis. Durante a fase exponencial, ocorre a multiplicação celular ativa, com elevado consumo de açúcares fermentáveis, como glicose e maltose, resultando na produção de etanol, dióxido de carbono e compostos secundários que influenciam o perfil sensorial da cerveja. Por fim, na fase estacionária, a taxa de crescimento iguala-se à taxa de morte celular, estabilizando a população de leveduras e marcando o fim da fermentação ativa (Bokulich; Bamforth, 2013).

Figura 5 - Fases de crescimento das leveduras



Fonte: Adaptado de Barros et al. (2020).

Na fase estacionária, o número de células viáveis e inviáveis tende a se estabilizar. Nesse estágio, os nutrientes e substratos estão quase esgotados, e o acúmulo de etanol e outros metabólitos tóxicos no meio fermentativo dificulta a sobrevivência das leveduras. Com isso, a taxa de mortalidade celular aumenta, e a quantidade de células inviáveis supera a de viáveis, o que indica o término da fermentação principal e a necessidade de transição para a etapa de maturação (Lima; Schuina; Bianchi, 2024).

A levedura *Saccharomyces* consegue se ajustar metabolicamente em presença ou ausência de oxigênio. Acontece na fase inicial da fermentação o processo de aerobiose, essa etapa é energeticamente mais eficiente e tem a finalidade de promover o crescimento e a ressuspensão da biomassa de levedura, essa fase é crucial e ocorre nas primeiras 24 horas do contato do mosto com o fermento. O processo sem o oxigênio, ou seja, o processo anaeróbico atua na conversão do açúcar em etanol e gás carbônico (Borzani *et al.*, 2001).

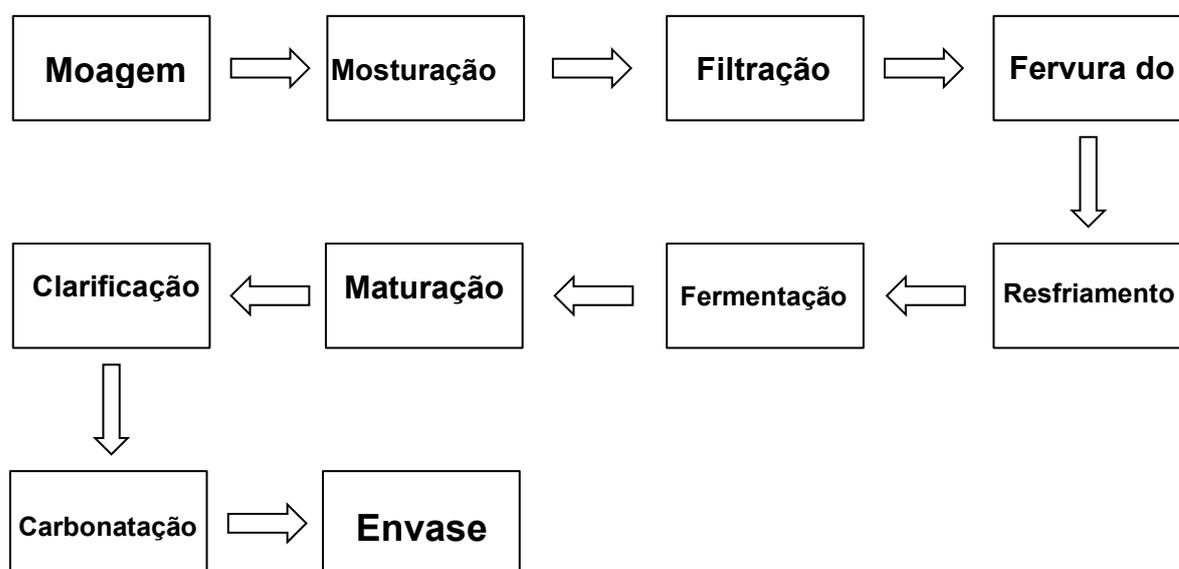
Vê-se como a levedura é parte primordial da cerveja. Sua qualidade, viabilidade e monitoramento descrevem como será a qualidade final do produto. A escolha de qual o fermento e se ele está apropriado deve ser uma prioridade para todo cervejeiro apaixonado por cerveja.

2.6 PROCESSO PRODUTIVO DA CERVEJA

O processo de produção de cerveja envolve várias etapas interligadas, podendo ser visto de forma didática no fluxograma representado na Figura 6, cada uma com sua função específica para garantir a qualidade e o sabor da bebida.

Inicialmente, ocorre a moagem do malte, onde o grão de malte é triturado para facilitar a extração dos açúcares durante a fervura. Após a moagem, o malte é misturado com água quente, promovendo a conversão dos amidos em açúcares fermentáveis. Em seguida, o mosto é filtrado para separar os sólidos, e passa pela fervura, onde lúpulos são adicionados para amargar e aromatizar a cerveja, além de esterilizar o líquido. Após a fervura, o mosto é resfriado e transferido para o tanque de fermentação, onde a levedura é adicionada para iniciar a fermentação alcoólica, transformando os açúcares em álcool e CO₂. Após a fermentação primária, a cerveja passa pela maturação, onde é armazenada por um período de tempo controlado para desenvolver sabores e estabilidade. Finalmente, a filtração e a carbonatação são realizadas antes do envase, garantindo a clareza e o equilíbrio da bebida antes de ser distribuída ao consumidor (Kunze, 2004).

Figura 6 – Fluxograma do processo produtivo da cerveja



Fonte: Autora (2025).

O processo de produção da cerveja apresenta uma base padronizada em todas as fábricas cervejeiras, diferenciando-se, no entanto, pelas receitas e particularidades que conferem características sensoriais específicas a cada tipo de cerveja (Kunze, 2004).

As etapas fundamentais do processo produtivo incluem a moagem do malte, na qual o malte é triturado para facilitar a extração de açúcares fermentáveis; a

brassagem, que compreende as fases de mostura, clarificação e fervura, responsáveis pela conversão do amido em açúcares e pela incorporação dos compostos do lúpulo que fornecem o amargor; a fermentação, em que as leveduras metabolizam os açúcares, produzindo etanol e dióxido de carbono; a maturação, etapa crucial para o desenvolvimento do sabor e do aroma da cerveja; a centrifugação e filtração, processos aplicados para garantir a estabilidade físico-química e a clarificação da bebida; e por fim, a carbonatação, que ajusta os níveis de gás carbônico, conferindo as características finais antes do envase e distribuição do produto (Abreu; Vieira; Ferreira, 2009).

A moagem do malte constitui uma etapa fundamental no processo de fabricação de cerveja, com a função principal de aumentar a superfície de contato do grão, facilitando a extração dos açúcares durante a mosturação. Para essa finalidade, utilizam-se predominantemente moinhos de rolos, como pode ser visto na Figura 7, que permitem um controle preciso sobre o tamanho das partículas, evitando a formação excessiva de farinha fina, a qual pode comprometer a filtração do mosto. Além disso, a integridade da casca do malte deve ser preservada, uma vez que desempenha um papel importante na clarificação do mosto. A correta moagem influencia diretamente a eficiência da extração de açúcares e a qualidade sensorial da cerveja, além de impactar o desempenho do processo de fermentação (Agência agrária, 2025).

Figura 7 - Moinho de rolos industrial utilizado para moagem de malte em cervejarias



Fonte: Autora (2023).

A brassagem é a segunda etapa na produção da cerveja, composta por processos sequenciais, são eles a mosturação, filtração e fervura. Essas fases visam extrair açúcares fermentescíveis do malte, preparar o mosto e adicionar compostos de sabor e aroma. Na mosturação, o malte moído é misturado com água quente em temperaturas controladas que geralmente variam entre 62 °C e 72 °C, dependendo do perfil enzimático desejado e do estilo de cerveja a ser produzido. Temperaturas mais baixas, próximas a 62–65 °C, favorecem a ação da β -amilase, resultando em açúcares fermentáveis que promovem uma cerveja mais seca, enquanto temperaturas mais altas, de 66–72 °C, ativam a α -amilase, produzindo açúcares maiores que proporcionam maior corpo e doçura residual à bebida. Essas enzimas quebram os amidos em açúcares simples. A filtração é a fase em que o mosto gerado é separado das cascas dos grãos, garantindo uma liquidez adequada para a fermentação. Por fim, a fervura serve para esterilizar o mosto, além de permitir a adição de lúpulo, que contribui com o amargor, aroma e sabor à cerveja (Kunze, 2004; Goldammer, 2008).

O processo de fermentação tem início com a inoculação das leveduras no tanque, ao qual o mosto é previamente aerado. A aeração inicial é fundamental para a multiplicação e crescimento das leveduras na fase inicial da fermentação. No entanto, à medida que as leveduras consomem os açúcares do mosto e o teor alcoólico aumenta, o oxigênio, que inicialmente era benéfico, torna-se prejudicial, inibindo a produção de etanol. Isso ocorre porque a presença de oxigênio pode oxidar a cerveja, resultando na formação de compostos indesejáveis, como o trans-2-nonenal, que confere um sabor característico de papelão. Dessa forma, a aeração é realizada apenas durante a transferência do mosto da panela de fervura para o tanque de fermentação (Bamforth, 2009).

A fermentação é uma etapa da produção da cerveja, responsável pela conversão dos açúcares do mosto em etanol e dióxido de carbono, por meio da ação das leveduras, predominantemente *Saccharomyces cerevisiae*. O processo de fermentação ocorre em duas fases distintas. Na fermentação primária, ocorre a maior parte do metabolismo dos açúcares presentes no mosto, onde as leveduras convertem os açúcares em etanol e dióxido de carbono. Já a fermentação secundária tem como objetivo o aprimoramento das características sensoriais da cerveja, como sabor, aroma e carbonatação. Esse processo é crucial para o desenvolvimento do perfil final da bebida. O controle rigoroso da temperatura durante ambas as fases é essencial para evitar a formação de compostos indesejáveis e para garantir uma

eficiência fermentativa otimizada, como destacado por Borzani *et al.* (2001) e Venturini Filho (2021). A fermentação secundária também é responsável por reduzir a presença de impurezas e melhorar a clarificação da cerveja.

A etapa de maturação é fundamental para o 'arredondamento' e afinamento da cerveja, influenciando diretamente a clarificação, o aprimoramento de sabores e a estabilidade do produto final. Durante essa fase, a cerveja é armazenada em temperaturas controladas e baixas, geralmente entre 0° e 4° C, o que permite a precipitação de leveduras, proteínas e sólidos solúveis. Além disso, ocorre a redução de compostos indesejáveis, que podem ser descartados ou até coletados para uma possível reutilização em fermentações subsequentes. O tempo de maturação varia conforme o estilo da cerveja; por exemplo, as ales tipicamente maturam por duas a quatro semanas, enquanto as cervejas de guarda podem exigir períodos mais longos, variando de três meses a um ano (Dawson, 2014).

A filtração da cerveja é um processo essencial para garantir a clareza, estabilidade microbiológica e a qualidade sensorial do produto final. Esse processo visa remover impurezas, como proteínas, leveduras e outros sólidos, melhorando a aparência da cerveja e prevenindo turbidez ou sedimentos indesejados. A filtração pode ser dividida em duas etapas: a primária, que remove partículas maiores logo após a fermentação e a secundária, que refina o produto utilizando filtros mais finos, como os de terra diatomácea ou membranas filtrantes. É importante um controle cuidadoso do processo, pois uma filtração excessiva pode remover compostos de sabor essenciais, como as proteínas que contribuem para o corpo, a espuma da cerveja e até oxidar a cerveja. A filtração a frio é uma técnica frequentemente utilizada para preservar a estabilidade microbiológica e a qualidade sensorial, especialmente em cervejas que necessitam de maior clareza e estabilidade (Kunze, 2004; Morado, 2017).

A carbonatação da cerveja é um aspecto fundamental para a qualidade sensorial da bebida, influenciando a percepção do aroma, sabor e sensação na boca. Segundo Morado (2017), esse processo pode ocorrer naturalmente, por meio da refermentação na garrafa ou no barril, ou de forma forçada, com a adição de dióxido de carbono (CO₂) sob pressão. A carbonatação natural resulta da atividade residual das leveduras, que consomem açúcares remanescentes e produzem CO₂, criando uma textura mais complexa e integrada ao perfil da cerveja. Por ser natural, é mais difícil controlá-la trazendo alguns riscos ao consumidor como a explosão da garrafa.

Já a carbonatação forçada permite um controle mais preciso dos níveis de gás, garantindo consistência e estabilidade no produto final. Além de contribuir para a formação e retenção da espuma, a carbonatação influencia diretamente a refrescância e a sensação tátil da cerveja, sendo um fator determinante na experiência sensorial do consumidor.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Esta seção descreve os materiais e métodos utilizados para a realização dos experimentos laboratoriais, com o objetivo de avaliar a viabilidade de reutilização da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em ciclos sucessivos de fermentação. As etapas foram conduzidas de forma controlada em ambiente laboratorial, buscando simular as condições fermentativas aplicadas à produção cervejeira artesanal, com foco na análise celular, rendimento fermentativo e consumo de substrato.

Esta seção descreve os materiais e métodos utilizados para a realização dos experimentos laboratoriais, com o objetivo de avaliar a viabilidade de reutilização da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em ciclos sucessivos de fermentação. As etapas foram conduzidas de forma controlada em ambiente laboratorial, buscando simular as condições fermentativas aplicadas à produção cervejeira artesanal, com foco na análise celular, rendimento fermentativo e consumo de substrato.

3.1 REAGENTES E MATERIAIS BIOLÓGICOS

Para a condução dos experimentos, foram utilizados reagentes de grau analítico, incluindo glicose como principal fonte de carbono (120 g; 100 g/L), fosfato monopotássico – KH_2PO_4 (1,2 g; 1 g/L), ureia como fonte de nitrogênio (1,2 g; 1 g/L), sulfato de magnésio – MgSO_4 (0,6 g; 0,5 g/L), extrato de levedura (2,2 g; 1,83 g/L) e água destilada até completar o volume final de 1,2 L. Todos os meios foram preparados no primeiro dia de pesquisa, assegurando uniformidade nas condições experimentais. A levedura empregada foi *Saccharomyces cerevisiae* liofilizada, da linhagem US-05, de uso cervejeiro, adquirida da marca Fermentis. A inoculação foi realizada diretamente no meio glicosado, numa concentração de 1 g/L, sem etapa prévia de propagação, e os frascos foram incubados a 30 °C por 24 horas para o início da atividade fermentativa. A Figura 8 apresenta a embalagem do produto utilizado.

Os experimentos contaram com o uso de autoclave para esterilização dos meios e frascos, incubadora com controle de temperatura (ajustada a 25 °C), centrífuga, câmara de Neubauer, espectrofotômetro com leitura a 540 nm, microscópio óptico, ebuliômetro, balança semi-analítica, além de materiais de uso geral como frascos Erlenmeyer de 250 mL, pipetas, provetas, termômetro, balões volumétricos, tubos Falcon e balanças de precisão e semi-analítica.

Figura 8 - Embalagem da levedura liofilizada *Saccharomyces cerevisiae* US-05, da marca Fermentis



Fonte: Autora (2025).

3.2 PREPARO E MEIO DE CULTURA

O meio fermentativo foi preparado com a adição de 120 g de glicose, 1,2 g de KH_2PO_4 , 1,2 g de ureia, 0,6 g de MgSO_4 , 2,2 g de extrato de levedura e de água destilada até completar 1,2L. Após homogeneização, o meio foi distribuído em 12 frascos Erlenmeyer de 250 mL, que serviram como unidades fermentativas, sendo posteriormente esterilizados em autoclave por 15 minutos à 121°C . A Figura 9 ilustra os reagentes utilizados no preparo do meio, enquanto a Figura 10 apresenta os frascos já distribuídos com o meio pronto para esterilização.

Figura 9 - Reagentes utilizados na preparação do meio fermentativo



Fonte: Autora (2025).

Figura 10 – Frascos Erlenmeyer contendo o meio fermentativo distribuído antes da esterilização



Fonte: Autora (2025).

3.3 INOCULAÇÃO E CONDIÇÕES DE FERMENTAÇÃO

A inoculação inicial foi realizada com uma concentração de 1 g/L de células. A fermentação ocorreu sob temperatura média de 30°C, na incubadora. No início e ao final de cada ciclo, os frascos eram pesados com o objetivo de estimar a perda de massa associada à liberação de CO₂ durante a fermentação. Após a pesagem final, 1 mL da suspensão de mosto fermentado era coletado de forma estéril, sem etapas intermediárias de centrifugação ou armazenamento, sendo imediatamente transferido para um novo frasco contendo meio fresco estéril. Esse frasco era então pesado e incubado por 24 h, dando início a um novo ciclo fermentativo.

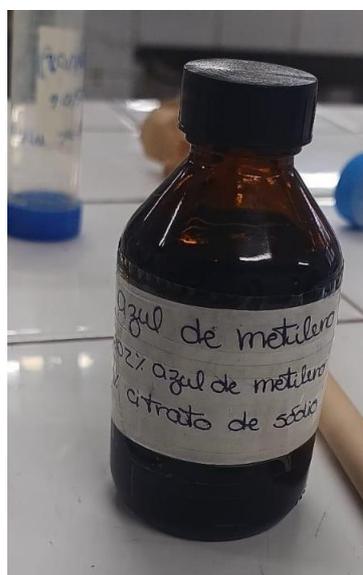
3.4 CONTAGEM DE CÉLULAS E VIABILIDADE CELULAR

A viabilidade celular foi determinada por coloração com azul de metileno, conforme ilustrado na Figura 11, sendo a contagem realizada na câmara de Neubauer. Para cada análise, foram coletados 1 mL da suspensão fermentada do frasco correspondente e 1 mL da solução de 2% de azul de metileno com citrato de sódio, os quais foram homogeneizados em tubo de ensaio. O procedimento foi realizado em duplicata, ou seja, duas amostras foram preparadas por ponto de coleta. Após a mistura, aguardou-se um tempo de 15 minutos para a fixação da coloração antes da leitura em microscópio óptico.

No primeiro dia de análise, as amostras permaneceram à temperatura ambiente após o tempo de coloração. No entanto, a partir do segundo dia foi adotado

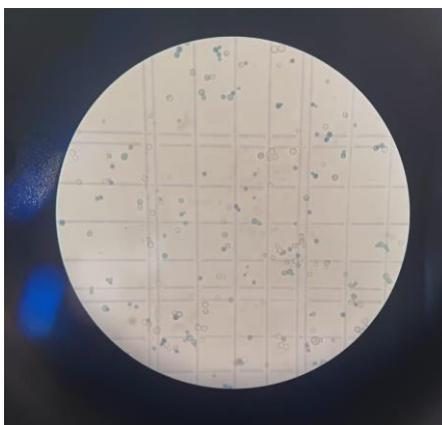
o resfriamento em banho de gelo imediatamente após os 15 minutos, com o objetivo de preservar a integridade celular até o momento da leitura. Para cada amostra, foram analisados 10 quadrantes da câmara de Neubauer, sendo 5 quadrantes na diagonal da esquerda para a direita e 5 quadrantes na diagonal da direita para a esquerda, ambos percorridos de cima para baixo. Distinguindo-se células viáveis/vivas (não coradas) das inviáveis/mortas (coradas), demonstrado na Figura 12, permitindo o acompanhamento da viabilidade das leveduras ao longo dos ciclos de reutilização.

Figura 11 - Azul de metileno utilizado na coloração das amostras para análise de viabilidade celular



Fonte: Autora (2025).

Figura 12 - Células vivas e mortas na Câmara de Neubauer



Fonte: Autora (2025).

3.5 QUANTIFICAÇÃO DE ETANOL E CO₂

A liberação de dióxido de carbono (CO₂) foi estimada por meio da diferença de massa dos frascos antes e após a fermentação, como exemplifica a Figura 13, utilizando balança semi-analítica. A produção de etanol foi avaliada por ebulliometria ao final de cada fermentação, técnica baseada na variação do ponto de ebulição conforme a concentração alcoólica. A temperatura era observada através de uma régua de correlação da temperatura com o percentual alcoólico. Ebuliômetro utilizado apresentado na Figura 14.

Figura 13 - Pesagem dos frascos antes e após a fermentação, utilizada para estimar a liberação de CO₂ com base na variação de massa



Fonte: Autora (2025).

Figura 14 - Ebuliômetro

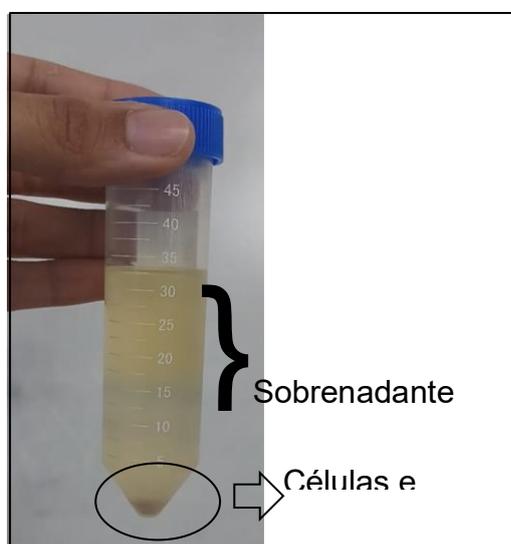


Fonte: Autora (2025).

3.6 ANÁLISE DA CONCENTRAÇÃO DE GLICOSE RESIDUAL

A concentração de glicose residual no meio foi determinada por espectrofotometria, utilizando o método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), com leituras realizadas a 540 nm. Em todos os ciclos fermentativos, foram retiradas amostras de aproximadamente 10 mL de cada frasco para a análise de glicose. As amostras foram transferidas para tubos Falcon e submetidas à centrifugação com o objetivo de remover células e impurezas, obtendo um sobrenadante limpo para posterior leitura, conforme ilustra a Figura 15.

Figura 15 - Amostra pós fermentação centrifugada para análise DNS



Fonte: Autora (2025).

Como o procedimento de coleta era diário, foi necessário equilibrar a centrífuga com tubos Falcon adicionais contendo volume equivalente de água destilada, garantindo o balanceamento adequado dos rotores. As amostras permaneceram na centrífuga de 4000 rpm por 10 minutos e, em seguida, o sobrenadante obtido foi cuidadosamente transferido para novos tubos identificados e armazenado sob refrigeração.

Todas as amostras foram devidamente rotuladas com identificação do ciclo e data de coleta, visto na Figura 16, mantendo controle rígido ao longo do experimento. As análises DNS foram realizadas apenas ao final de todos os ciclos fermentativos, utilizando-se uma curva padrão previamente construída para a conversão dos valores de absorbância em concentração de glicose.

As análises DNS foram realizadas ao final de todos os ciclos fermentativos, onde inicialmente, o sobrenadante de cada amostra foi diluído em balões volumétricos na proporção de 1:50, adicionando-se 1 mL da amostra e completando com água destilada. O branco utilizado foi composto apenas por água destilada. Em seguida, foram transferidos 0,5 mL da amostra diluída e 1 mL da solução de DNS para tubos Folin-Wu, apropriados para essa análise. As amostras foram incubadas em banho-maria a 100 °C por 5 minutos para ativar a reação de redução do DNS e, posteriormente, resfriadas em banho de gelo por 1 minuto para interromper a reação. Após o resfriamento, o volume total das amostras foi ajustado para 12,5 mL com adição de água destilada, antes da leitura no espectrofotômetro UV, com a absorbância registrada no comprimento de onda de 540 nm.

Figura 16 - Exemplo de Identificação dos tubos Falcon para análise de glicose



Fonte: Autora (2025).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo, são apresentados e analisados os resultados obtidos ao longo dos ciclos fermentativos utilizando levedura *Saccharomyces cerevisiae* em reuso sucessivo. Os dados foram organizados com base nos parâmetros avaliados, como concentração celular, viabilidade, liberação de CO₂, produção de etanol e consumo de glicose. A discussão é feita à luz da literatura científica, buscando interpretar as tendências observadas e compreender o comportamento da levedura frente às condições experimentais adotadas.

4.1 CONTAGEM DE CÉLULAS E VIABILIDADE

Durante os dez ciclos de fermentação avaliados, foi possível observar uma redução progressiva na concentração de células viáveis de *Saccharomyces cerevisiae* ao longo dos re-inóculos.

Tabela 2 - Média de contagem de células/mL e viabilidade celular

Ciclo	Média Cél vivas	Média Cél Mortas	Média total	Média Viab
1	4,99E+06	4,13E+06	9,11E+06	54,7%
2	4,81E+06	2,60E+06	7,41E+06	64,9%
3	3,13E+06	1,39E+06	4,51E+06	69,3%
4	3,18E+06	2,14E+06	5,31E+06	59,8%
5	5,40E+06	1,05E+06	6,45E+06	83,7%
6	1,36E+06	7,75E+05	2,14E+06	63,7%
7	1,09E+06	4,25E+05	1,51E+06	71,9%
8	6,13E+05	4,88E+05	1,10E+06	55,7%
9	9,13E+05	1,38E+05	1,05E+06	86,9%
10	5,00E+04	2,88E+05	3,38E+05	14,8%

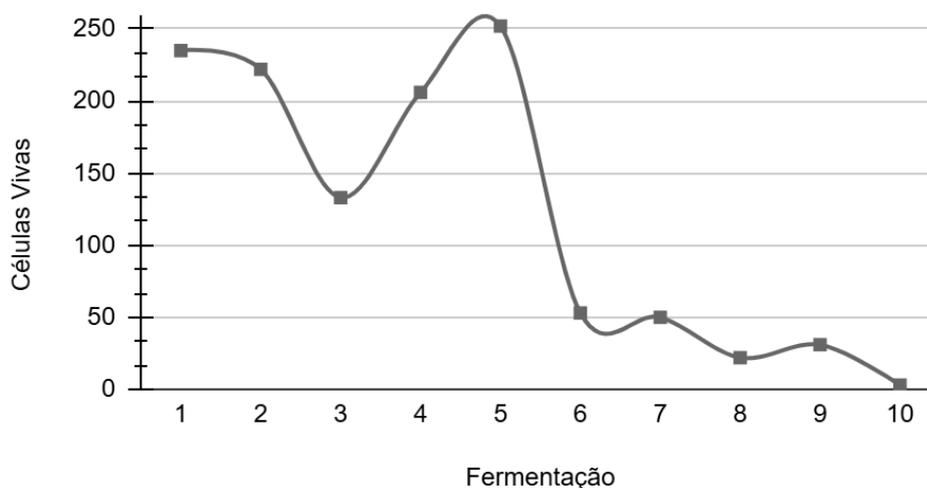
Fonte: Autora (2025).

A Tabela 2 indica uma redução progressiva no número de células viáveis ao longo dos ciclos fermentativos, por exemplo, de 4.987.500 no primeiro ciclo para 1.087.500 no sétimo. Embora o meio de cultivo fosse renovado a cada fermentação, garantindo a disponibilidade de nutrientes, observou-se queda significativa na

viabilidade celular. Isso pode ser atribuído a fatores como o envelhecimento das leveduras, o acúmulo de estresse fisiológico devido à exposição repetida ao etanol e à diminuição da capacidade de regeneração celular ao longo dos reusos. Kalayu (2019) destaca que, mesmo em condições nutricionalmente adequadas, o reuso sucessivo de leveduras pode comprometer sua fisiologia, reduzindo sua atividade fermentativa e viabilidade ao longo dos ciclos.

Na Tabela 2, observa-se a contagem média de células vivas e mortas por ciclo na média das amostras, evidenciando a tendência de declínio da viabilidade. A partir da sexta reutilização das leveduras, observou-se uma queda acentuada na viabilidade celular e, conseqüentemente, na capacidade fermentativa, conforme mostrado na Figura 17, que ilustra a evolução da concentração de células vivas ao longo dos ciclos. Essa tendência é consistente com o acúmulo de estresse fisiológico que afeta as células a cada novo ciclo, especialmente por exposição contínua ao etanol produzido nas fermentações anteriores e ao desgaste do metabolismo celular (Sturmberger et al., 2021).

Figura 17 - Gráfico de células vivas ao longo dos ciclos de fermentação



Fonte: Autora (2025).

Embora o meio de cultura tenha sido renovado a cada re-inóculo, o que exclui a limitação de nutrientes como fator, outros elementos contribuem para a queda na viabilidade, como alterações na integridade da membrana plasmática, redução na capacidade de regeneração e envelhecimento celular (Zhao *et al.*, 2020; Jin *et al.*, 2023).

A Tabela 3 apresenta os valores na duplicata e variações que podem ser observadas entre as amostras, especialmente no primeiro ciclo, essas diferenças podem ser atribuídas a fatores operacionais. Esse fator foi evidenciado já no primeiro dia de fermentação, quando se observou um número elevado de células mortas na contagem. Como medida corretiva, foi incluída na metodologia a etapa de conservação constante das amostras em banho de gelo durante todas as manipulações, o que contribuiu para maior uniformidade nos ciclos seguintes. Essa correção metodológica teve por objetivo preservar a integridade celular e reduzir interferências externas nos resultados, aspecto também salientado por Oi et al. (2012), ao abordarem a influência das condições de manuseio na vitalidade das leveduras.

Tabela 3 - Duplicatas da contagem de células e viabilidade

Ciclo	Células Vivas(1)	Células Vivas(2)	Células Mortas(1)	Total de Células(1)	Total de Células(2)	Viabilidade (%)	Viabilidade (%)
1	5,88E+06	4,10E+06	3,78E+06	9,65E+06	8,58E+06	60,9%	47,80%
2	5,55E+06	4,08E+06	3,23E+06	8,78E+06	6,05E+06	63,2%	67,40%
3	3,33E+06	2,93E+06	1,18E+06	4,50E+06	4,53E+06	73,9%	64,60%
4	5,15E+06	1,20E+06	2,95E+06	8,10E+06	2,53E+06	63,6%	47,50%
5	6,30E+06	4,50E+06	9,50E+05	7,25E+06	5,65E+06	86,9%	79,60%
6	1,33E+06	1,40E+06	6,75E+05	2,00E+06	2,28E+06	66,3%	61,50%
7	1,25E+06	9,25E+05	5,00E+05	1,75E+06	1,28E+06	71,4%	72,50%
8	5,50E+05	6,75E+05	2,75E+05	8,25E+05	1,38E+06	66,7%	49,10%
9	7,75E+05	1,05E+06	1,25E+05	9,00E+05	1,20E+06	86,1%	87,50%
10	7,50E+04	2,50E+04	3,25E+05	4,00E+05	2,75E+05	18,8%	9,10%

Fonte: Autora (2025).

A literatura científica aponta que, em condições laboratoriais e mesmo em ambientes industriais controlados, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* pode ser reutilizada de 3 a 6 vezes sem prejuízos significativos à fermentação. Após esse limite, observa-se uma redução da viabilidade e vitalidade celular, aumento no risco de contaminações e alterações indesejadas no perfil sensorial do produto (Vieira et al., 2013). Essa recomendação também é reforçada por publicações técnicas voltadas à cervejeiros artesanais, que sugerem um número máximo semelhante de reutilizações antes que o desempenho fermentativo seja comprometido (Hopsterbrew, 2023).

Estudos como o de Kalayu (2019) e Powell et al. (2003) também destacam que a persistência do uso sem renovação da cultura pode levar à seleção de subpopulações celulares menos eficientes, comprometendo o desempenho fermentativo. Em consonância com a literatura, os dados desse experimento mostram um declínio marcante na viabilidade, no número total de células e na produção de etanol após o sexto ciclo.

4.2 PRODUÇÃO DE ETANOL

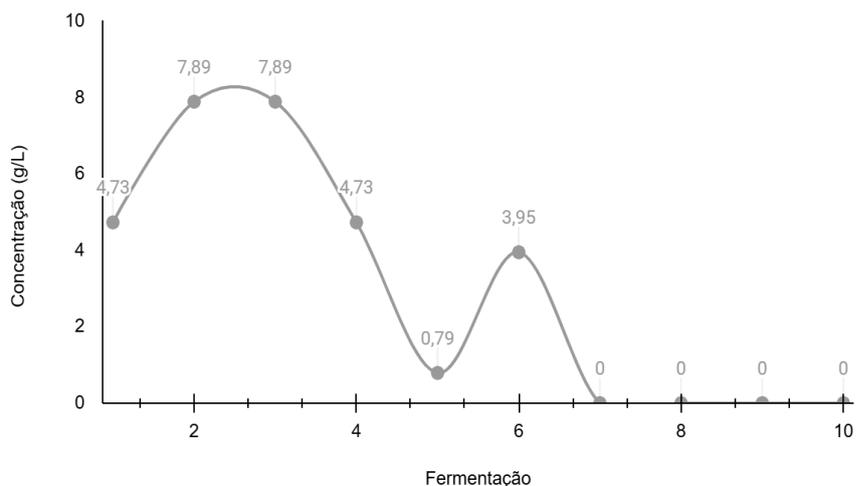
A Tabela 4 e a Figura 18, apresentam os valores de produção de etanol (g/L) ao longo dos ciclos, indicando que os resultados seguem os padrões esperados tanto na literatura científica quanto na prática industrial.

Tabela 4 - Variação da concentração de etanol

Ciclo	Grau Alcoólico (GL)	Concentração (g/L)
1	0,6	4,73
2	1	7,89
3	1	7,89
4	0,6	4,73
5	0,1	0,79
6	0,5	3,95
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0

Fonte: Autora (2025).

Ao analisar a produção de etanol ao longo dos dez ciclos de fermentação, observou-se uma tendência decrescente nos teores alcoólicos, especialmente após o quinto re-inóculo. Na primeira fermentação, a concentração de etanol foi de aproximadamente 4,7 g/L (0,6°GL), alcançando um pico de 7,8 g/L (1°GL) nos ciclos dois e três, seguido por uma queda gradual até atingir 0 g/L a partir do sétimo ciclo.

Figura 18 - Produção de etanol ao longo dos ciclos

Fonte: Autora (2025).

Essa redução progressiva está diretamente relacionada à queda na viabilidade celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, como discutido anteriormente. Leveduras menos viáveis apresentam metabolismo fermentativo comprometido, o que impacta diretamente na conversão de açúcares em etanol (Zhao et al., 2020). Segundo Kalayu (2019), a reutilização serial da levedura está associada a alterações fisiológicas, como o envelhecimento celular, acúmulo de mutações e aumento da permeabilidade da membrana plasmática, o que compromete o transporte de nutrientes e a excreção de metabólitos, incluindo o etanol.

Além disso, Vieira et al. (2013) apontam que após o sexto re-inóculo, há queda significativa na eficiência fermentativa, tornando a reutilização economicamente inviável sem uma renovação parcial ou total da cultura. Esse comportamento também é evidenciado na indústria cervejeira, onde o limite de reutilizações geralmente varia entre 4 e 6 ciclos para manter o desempenho fermentativo e a estabilidade sensorial do produto. Essa prática é corroborada por estudos científicos, como o de Powell et al. (2003), que analisam os impactos fisiológicos da reutilização sucessiva das leveduras, e também por orientações técnicas voltadas à cervejeiros artesanais (Hopsterbrew, 2023).

Outro ponto relevante é o impacto cumulativo da concentração de etanol residual nos meios subsequentes, que pode gerar estresse osmótico nas células, reduzindo sua taxa de crescimento e atividade metabólica (Jin et al., 2023). Isso explica, em parte, a queda de produção mesmo em presença de substrato disponível.

4.3 LIBERAÇÃO DE CO₂ POR VARIAÇÃO DE MASSA

Durante os ciclos de fermentação avaliados, observou-se uma variação progressiva da massa dos frascos fermentativos, atribuída principalmente ao desprendimento de dióxido de carbono (CO₂), conforme descrito na Tabela 6.

Tabela 5 - Dados da perda de massa na liberação de CO₂

Ciclo	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Diferença (g)
1	235,3	234,6	0,7
2	220,2	219,7	0,5
3	242,1	241,3	0,8
4	229,5	228,9	0,6
5	234,1	233,6	0,5
6	205,3	205,1	0,2
7	251,6	251,6	0
8	251,4	251,1	0,3
9	211,3	211	0,3
10	246,4	246,1	0,3

Fonte: Autora (2025).

Essa perda de massa está diretamente relacionada à reação global da fermentação alcoólica realizada por *Saccharomyces cerevisiae*, representada na via glicolítica abaixo:



Ou seja, para cada molécula de glicose fermentada, são geradas duas moléculas de etanol e duas de CO₂, sendo este último liberado na forma gasosa, o que justifica a diminuição de massa observada nos frascos.

Nos primeiros ciclos, o desprendimento de CO₂ foi mais intenso, indicando uma maior taxa fermentativa e, portanto, maior atividade metabólica das leveduras. No entanto, a partir do sexto ciclo, essa taxa apresentou queda significativa, refletindo a redução na viabilidade e vitalidade celular. Essa tendência também é reportada por Garge *et al.* (2024), que destacam alterações na expressão proteica de leveduras submetidas a múltiplos reusos, especialmente em proteínas associadas à glicólise e à tolerância ao estresse, resultando em fermentações menos eficientes.

Eigenfeld et al. (2023) também evidenciam que a proporção de células envelhecidas aumenta com o número de re-inóculos, afetando a integridade mitocondrial e a taxa de consumo de açúcares, fatores que impactam diretamente a geração de CO₂. Isso pode explicar a menor perda de massa observada nos ciclos finais, pois leveduras senescentes possuem menor capacidade de conversão da glicose em etanol e CO₂.

Além disso, Deželak et al. (2015) observaram que o reaproveitamento contínuo de levedura pode afetar a assimilação de íons essenciais ao metabolismo fermentativo, como magnésio e zinco, reduzindo a eficiência na geração de CO₂ e etanol. Isso reforça que, mesmo com o fornecimento de novo meio nutritivo a cada ciclo, o envelhecimento celular e a fadiga metabólica são fatores limitantes na performance fermentativa, como observado no presente estudo.

Por fim, Pinto Neto et al. (2023) confirmam que o desempenho fermentativo é sustentável até o sexto ciclo de reutilização, mas tende a declinar significativamente após esse ponto, coincidindo com os dados obtidos neste trabalho sobre a redução na variação de massa a partir do ciclo 7.

Apesar disso, mesmo nos ciclos finais, quando os teores de etanol se aproximaram de zero, observou-se ainda uma leve variação de massa, evidência da liberação de CO₂, conforme apresentado na Tabela 5 e 6. Esse comportamento pode ser explicado por três mecanismos complementares. O primeiro é a atividade metabólica residual: mesmo sob forte estresse, algumas células ainda realizam etapas iniciais da glicólise, liberando CO₂ mesmo sem completar a fermentação alcoólica (Eigenfeld et al., 2023). Outro fator é a possível ativação da via respiratória aeróbica, induzida por traços de oxigênio no sistema, que gera CO₂ sem formar etanol. Por fim, a autólise e a degradação de compostos do meio por enzimas liberadas durante a morte celular também podem resultar na liberação de CO₂ (Deželak et al., 2015).

Esses mecanismos sugerem que a massa perdida nos últimos ciclos não reflete fermentação eficiente, mas sim atividades metabólicas residuais ou efeitos indiretos do processo de senescência celular. Tal observação está de acordo com os padrões descritos na literatura e reforça a importância de limitar o número de reutilizações das leveduras para garantir a estabilidade e o desempenho do processo fermentativo.

4.4 ANÁLISE DAS CONCENTRAÇÕES DE GLICOSE RESIDUAL

A Tabela 6 mostra um aumento progressivo na concentração de glicose residual nos mostos ao final de cada ciclo de fermentação.

Tabela 6 - Análise DNS para avaliar glicose residual nos ciclos de reuso

Ciclo	Abs	Diluição	Glicose (g/L)
Controle (S0)	0,349	100	125,89
1 ^a	0,222	50	41,29
2 ^a	0,286	50	52,20
3 ^a	0,308	50	55,87
4 ^a	0,487	50	86,48
5 ^a	0,538	50	95,09
6 ^a	0,553	50	97,73
7 ^a	0,600	50	105,75
8 ^a	0,632	50	111,20
9 ^a	0,651	50	114,36
10 ^a	0,665	50	116,83

Fonte: Autoral (2025).

Esse comportamento indica uma diminuição na eficiência de consumo de açúcares fermentáveis pela levedura ao longo dos re-inóculos. Nos primeiros ciclos, observa-se maior depleção da glicose, refletindo atividade metabólica robusta e fermentação eficiente. No entanto, a partir do quinto ciclo, esse consumo se reduz significativamente, coincidindo com a queda na viabilidade celular e na produção de etanol discutidas anteriormente.

Esse acúmulo de glicose pode ser explicado pela perda de vitalidade fermentativa das células de *S. cerevisiae* ao longo dos re-inóculos. Estudos recentes indicam que o metabolismo glicolítico é progressivamente comprometido durante diversos ciclos de reuso. Em particular, Garge et al. (2024) mostraram que ocorre uma mudança na expressão proteica, incluindo enzimas envolvidas na glicólise, o que reduz o rendimento fermentativo com o passar dos ciclos. Além disso, Eigenfeld et al. (2023) relatam que o acúmulo de células envelhecidas e fisiologicamente estressadas diminui a atividade de captura e transformação de glicose, impactando diretamente o consumo do substrato.

Essa queda na eficiência de utilização de glicose está também alinhada com os achados de Deželak *et al.* (2015) e Pinto Neto *et al.* (2023), que indicam que após o sexto ciclo a capacidade fisiológica da levedura é significativamente reduzida, resultando em glicose residual elevada no meio, mesmo com meio fresco em cada reuso.

Outro fator que pode contribuir para esse comportamento é a possível acumulação de subprodutos tóxicos ao longo dos ciclos, como ácidos graxos de cadeia curta, aldeídos e compostos fenólicos, que afetam o metabolismo central da célula e a regeneração do NAD⁺, essencial para manter o fluxo glicolítico (Boulton; Quain, 2001; Zhao *et al.*, 2020).

O aumento contínuo da concentração de glicose residual, mesmo diante da renovação do meio, reforça a hipótese de fadiga celular como fator limitante. Conforme Pinto Neto *et al.* (2023) e Deželak *et al.* (2015), a reutilização excessiva de leveduras pode comprometer sua capacidade de adaptação a novos ciclos fermentativos, afetando diretamente a assimilação de nutrientes essenciais e o desempenho global da fermentação.

Além disso, observou-se que os valores obtidos para a concentração inicial de glicose estavam acima dos 100 g/L esperados, mesmo com a formulação do meio padronizada. Essa discrepância pode ser explicada por interferências inerentes ao método DNS, que reage com qualquer açúcar redutor presente na amostra. O extrato de levedura utilizado pode conter traços de outros carboidratos redutores, como maltose ou dextrinas, que reagem com o reagente DNS e resultam em superestimação da concentração de glicose. Outras possíveis causas incluem a perda de água por evaporação durante a esterilização, o que concentra o meio, ou pequenas variações na homogeneização e pipetagem durante o preparo da curva padrão ou das amostras. Estudos demonstram que a presença de compostos com grupos carbonila ativos, como furfural e 5-hidroximetilfurfural, pode elevar em até 68 % a estimativa de açúcares redutores pelo DNS em relação ao valor real (Deshavath *et al.*, 2020).

Outro fator que deve ser considerado é a possibilidade de erro na pesagem dos sólidos no momento do preparo do meio de cultura, especialmente em etapas manuais, o que pode ter levado à adição de uma quantidade superior a 120 g de glicose no volume total. Esse tipo de erro operacional é comum em ambientes experimentais e pode justificar os valores elevados detectados na quantificação inicial.

De forma geral, os dados obtidos ao longo dos ciclos indicaram que o reuso da levedura *Saccharomyces cerevisiae* é viável por até seis reaproveitamentos consecutivos, mantendo bons níveis de viabilidade celular, produção de etanol e liberação de CO₂. Observou-se que, mesmo com pequenas oscilações na concentração de glicose inicial, atribuídas a interferências do método DNS e variações técnicas, o desempenho fermentativo permaneceu satisfatório até o sexto ciclo, com queda acentuada a partir do quinto. Esses achados confirmam que a prática de re-inóculos, quando controlada e monitorada adequadamente, contribui para a eficiência do processo, redução de custos e sustentabilidade na produção cervejeira.

5 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que o reuso sucessivo de *Saccharomyces cerevisiae* em ciclos fermentativos afeta significativamente o desempenho fisiológico e fermentativo das células. Observou-se uma queda progressiva na concentração de células viáveis, especialmente após o quinto ciclo, o que corrobora com a literatura que estabelece esse ponto como um limite crítico para o reaproveitamento eficiente da levedura.

A produção de etanol e a variação de massa (indicativa da liberação de CO₂) também apresentaram redução a partir dos ciclos intermediários, mesmo com o fornecimento de meio de cultura fresco e nutricionalmente adequado em todos os reinóculos. Isso sugere que fatores como o envelhecimento celular, a fadiga metabólica e o acúmulo de estresse osmótico e etanólica impactaram diretamente o metabolismo fermentativo.

Além disso, a concentração de glicose residual aumentou nos ciclos finais, indicando um comprometimento da capacidade de assimilação e metabolização do açúcar pelas leveduras reutilizadas. Este achado reforça que, mesmo em condições laboratoriais controladas, o desempenho fermentativo de *Saccharomyces cerevisiae* tende a declinar com o número de reutilizações, especialmente quando ultrapassado o sexto ciclo.

Por fim, a padronização metodológica, como o uso do banho de gelo e o descarte de dados de duplicatas inconsistentes, foi essencial para garantir a fidedignidade dos resultados. O conjunto dos dados obtidos neste trabalho fornece subsídios relevantes para a definição de protocolos seguros de reutilização de leveduras, com vistas à manutenção da eficiência e qualidade no processo fermentativo, sendo especialmente útil tanto em contextos laboratoriais quanto industriais.

REFERÊNCIAS

- ABREU, Amaro. D. J.; VIEIRA, Antônia. G.; FERREIRA, Taciano. P. Processo de produção de cerveja. **Revista Processos Químicos**, jul./dez. 2009, p. 61-71.
- AGÊNCIA AGRÁRIA. **Palestra sobre Moagem de Malte**. Disponível em: https://www.agraria.com.br/extranet_2016/uploads/AgromalteArquivo/palestra_3___moagem_de_malte_1596198622627.pdf. Acesso em: 20 mar. 2025.
- AGÊNCIA BRASILEIRA DE PROMOÇÃO DE EXPORTAÇÕES E INVESTIMENTOS (APEXBRASIL). **Promoção das cervejas brasileiras no mercado internacional**. Brasília, 2023.
- BAMFORTH, C. W. **Beer: Tap into the Art and Science of Brewing**. 3. ed. New York: Oxford University Press, 2009.
- BAMFORTH, C. W. **Scientific Principles of Malting and Brewing**. St. Paul: American Society of Brewing Chemists, 2006.
- BARROS, Antônio André Chivanga; SIMIONATTO, Edésio Luiz; BARROS, Antônio Chivanga. Avaliação da capacidade fermentativa e do crescimento celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* CCT-3174. In: SIMIONATTO, Edésio Luiz; BARROS, Antônio Chivanga; BARROS, Antônio André Chivanga. (Org.). **Anais do 10º Congresso Brasileiro de Tecnologia de Alimentos**. São Paulo
- BARTHHAAS. **BarthHaas report 2024/2025**. Nuremberg: BarthHaas GmbH & Co. KG, 2025. Disponível em: <https://www.barthhaas.com/>. Acesso em: 12 ago. 2025.
- Beer judge certification program. **Guia de estilos de cerveja**. 2021. Disponível em: <https://www.bjcp.org/wp-content/uploads/2013/10/bjcp-2021-pt-br-1.1.pdf>. Acesso em: 4 ago. 2025.
- BOKULICH, N. A.; BAMFORTH, C. W. The microbiology of malting and brewing. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 77, n. 2, p. 157–172, 2013.
- BOKULICH, N. A.; MILLS, D. A. Beer microbiology. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 4, p. 37–55, 2013.
- BOULTON, C.; QUAIN, D. **Brewing Yeast and Fermentation**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2001.
- BORZANI, W.; ALMEIDA LIMA, U.; AQUARONE, E.; SCHMIDELL, W. (Org.). **Biotechnologia Industrial (Processos Fermentativos e Enzimáticos)**, v. 3. São Paulo: Edgar Blücher, 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Setor cervejeiro segue crescendo a cada ano, aponta anuário**. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/setor-cervejeiro-segue-crescendo-a-cada-ano-aponta-anuario>. Acesso em: 25 mar. 2025.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 4, de 17 de janeiro de 2001. Regulamento técnico de identidade e qualidade para cerveja e chope. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 27, de 16 de julho de 2014. Regulamento técnico de identidade e qualidade para cervejas e chope. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 17 jul. 2014.

DAWSON, Chris P. **Brewing: Science and Practice**. 2. ed. Cambridge: Woodhead Publishing, 2014.

DE FLORIANI POZZA REBELLO, F. Produção de Cerveja. **Revista Agrogeoambiental**, v. 1, n. 3, p. 11, 2009.

DESHAVATH, N. N.; MUKHERJEE, G.; GOUD, V. V.; VEERANKI, V. D.; SASTRI, C. V. Pitfalls in the 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) assay for the reducing sugars: interference of furfural and 5-hydroxymethylfurfural. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 156, p. 180–185, 2020.

DE SOUZA, C. **Pasteurização da cerveja em linha de envase: estabilização de resultados**. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Química). Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de Lorena - EEL/USP, 2018.

DEŽELAK, M.; GEBREMARIAM, M. M.; ZARNKOW, M.; BECKER, T.; KOŠIR, I. J. *Effects of serial repitching of Saccharomyces pastorianus on fermentable carbohydrates and ion uptake*. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 121, n. 2, p. 213–220, 2015.

EIGENFELD, M.; WITTMANN, L.; KERPES, R.; SCHWAMINGER, S. P.; BECKER, T. Studying the impact of cell age on the yeast growth behavior of *Saccharomyces pastorianus* var. *carlsbergensis* by magnetic separation. **Biotechnology Journal**, v. 18, n. 11, e2370113, 2023.

EUROMONITOR INTERNATIONAL. **Beer in Brazil**. Londres: Euromonitor International, 2023. Disponível em: <https://www.euromonitor.com/beer-in-brazil/report>. Acesso em: 12 ago. 2025.

EUROSTAT. **Produção de cerveja na União Europeia em 2023**. Disponível em: <https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-eurostat-news/w/edn-20240802-1>. Acesso em: 4 ago. 2025.

EURREPORTER. **34,3 billion litres of beer produced in the EU in 2023**. EurReporter, 2024. Disponível em: <https://pt.eureporter.co/health/alcohol-health/2024/08/06/34-3-billion-litres-of-beer-produced-in-the-eu-in-2023/>. Acesso em: 1 abr. 2025.

FORBES AGRO (Forbes Brasil). Produção nacional de lúpulo em pellets mira cervejeiros artesanais. **Forbes Agro**, 23 set. 2022.

GARGE, R. K.; Geck, R. C.; Armstrong, J.O.; Dunn, B.; Boutz, D.R.; Battenhouse, A.; Leuter, M; Dang, V.; Jiang, P; Kwiatkowski, D; Peiser, T; McElroy, H.; Marcotte, E. M.;

Dunham, M.J.. Systematic profiling of ale yeast protein dynamics across fermentation and repitching. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, v. 14, n. 3, 2024.

GIBSON, B. R.; LAWRENCE, S. J.; LECLAIRE, J. P. R.; POWELL, C. D.; SMART, K. A. Yeast responses to stresses associated with industrial brewery handling. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 31, n. 5, p. 535–569,

GOBBI, M.; COMITINI, F.; DOMIZIO, P.; ROMANI, C.; LENCIONI, L. Fermentation nutrients: Focus on nitrogen compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2020.

GOLDAMMER, T. **The Brewer's Handbook: The Complete Book to Brewing Beer**. Apex Publishers, 2008.

HOPSTERSBREW. **How many times can you reuse yeast for brewing?** 2023. Disponível em: <https://hopstersbrew.com/how-many-times-can-you-reuse-yeast-brewing/>. Acesso em: 14 jul. 2025.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Estatísticas de comércio exterior de bebidas alcoólicas**. Rio de Janeiro, 2023.

KALAYU, G. Serial re-pitching: its effect on yeast physiology, fermentation performance, and product quality. **Annals of Microbiology**, v. 69, p. 787–796, 2019.

KARLS, T. S.; MELO, V. A. Novas dinâmicas de lazer: as fábricas de cerveja no Rio de Janeiro do século XIX (1856–1884). **Movimento**, v. 24, n. 1, p. 147–160, 2018.

KIRIN HOLDINGS COMPANY. **Global beer consumption by country in 2023**. Tokyo: Kirin Holdings, 2024. Disponível em: https://www.kirinholdings.com/en/newsroom/release/2024/1219_01.html. Acesso em: 27 maio 2025.

KPMG. **Indústria de bebidas alcoólicas enfrenta desafios logísticos globais**. 2023.

KUNZE, W. **Technology Brewing and Malting**. 4. ed. Berlin: VLB, 2004.

KUTSCHERA, U.; DAVIS, I. **Antonie van Leeuwenhoek 1723–2023: a review to commemorate 300 years since his death**. Antonie van Leeuwenhoek, Springer, 2023.

LEKER, J.; MAYE, J. P.. Discovery of Acetohumulone and Acetolupulone a New Hop Alpha Acid and Beta Acid. **Journal Of The American Society Of Brewing Chemists**, [S.L.], p. 1-6, 23 jun. 2022.

LIAO, Jingwen; YANG, Yuzhang; GU, Wanfa; YAO, Ling; WEI, Qingli; LUO, Wuhong; GONG, Yingxue; DING, Lanpo; GU, Chunguang; ZHANG, Juzhong. A new filtered alcoholic beverage: residues evidence from the Qingtai site (ca. 5,500–4,750 cal. BP) in Henan Province, Central China. **Frontiers in Earth Science**, v. 10, p. 884630, 2022.

LIMA, O. R.; SCHUINA, G. L.; BIANCHI, V. L. D. Avaliação do comportamento e viabilidade celular de levedura em diferentes alturas durante a fermentação de cerveja Ale. **Revista Sociedade Científica**, v. 7, n. 1, p. 1042–1062, 2024.

LIU, Li; WANG, Jiajing; LEVIN, Maureece J.; SINNOTT-ARMSTRONG, Nasa; ZHAO, Hao; ZHAO, Yanan; SHAO, Jing; DI, Nan; ZHANG, Tian'en. The origins of specialized pottery and diverse alcohol fermentation techniques in Early Neolithic China. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 116, n. 26, p. 12767–12774, 2019.

MAICAS, S.. **The Role of Yeasts in Fermentation Processes**. *Microorganisms*, v. 8, n. 8, art. 1142, 2020. Publicado pela MDPI, Basel, Switzerland.

MCGOVERN, P. E. **Uncorking the past: the quest for wine, beer, and other alcoholic beverages**. Berkeley: University of California Press, 2010.

MCGOVERN, P. E.; Zhang, J.; Tang, J.; Zhang, Z.; Hall, G. R.; Moreau, R. A.; Nuñez, A.; Butrym, E. D.; Richards, M. P.; Wang, C.-S.; Cheng, G.-S.; Zhao, Z.-J.; Wang, C.-S. Fermented beverages of pre- and proto-historic China. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 51, p. 17593–17598, 2004.

MELO, G. C. **Cerveja e Cultura Brasileira**. São Paulo: Editora Contexto, 2018.

MEUßDOERFFER, Franz G.; ZARNKOW, Martin. **Das Bier – Eine Geschichte von Hopfen und Malz**. München: C. H. Beck-Verlag, 2014.

MICHEL, M.; siag, T.; elliott, M. J.; lawrence, D.; walker, G.; baxter, L.; ó hartaigh, S.; cameron, R.; howard, J.; smith, L.; clarke, C.; tomsett, A. Yeast vitality and viability in brewing: correlation with fermentation performance. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 122, n. 1, p. 42–52, 2016.

MORADO, C. **História da Cerveja: das origens ao século XXI**. São Paulo: Senac, 2011.

MORADO, R. **Larousse da Cerveja**. 1. ed. São Paulo: Larousse do Brasil, 2017.

MOTTA, C. S.; BERNARDES, P. C.. **Atividades antimicrobiana e antibiofilme de extratos de lúpulos (*Humulus lupulus* L.) cultivados no Brasil**. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) — Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2022.

MURMANN, Anne N.; BEVILACQUA, Marta; DANIELSEN, Bente P.; JANSSON, Therese; ENGHOLM-KELLER, Kasper; POOJARY, Mahesha M.; ARNEBORG, Nils; LUND, Marianne N. The impact of lager brewing yeasts on flavor stability of pilot-scale beer during storage. **Food Research International**, v. 168, p. 1-8, 2024.

PALMER, John J. **How to Brew: Everything You Need To Know To Brew Beer Right The First Time**. 4. ed. BeerSmith LLC, 2021.

PESAVENTO, S. J.. A indústria da cerveja no Rio Grande do Sul e a imigração alemã. *Revista da Cerveja | Especial RS*, p. 77, 2019.

PINTO, M. B. C. **Isomerização de ácidos amargos de lúpulo cascade cultivado no Brasil e seu desempenho durante a fermentação da cerveja**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Unicamp, São Carlos, SP, 2018.

PINTO NETO, M. F. et al. *Efeito da reutilização de leveduras na produção de etanol e alterações morfológicas celulares*. **Revista Brasileira de Biotecnologia Aplicada**, v. 12, n. 2, p. 45–52, 2023.

POWELL, C. D.; DIACETIS, A. N.; VAN ZANDYCKE, S. M.; AHLGREN, S.; BENDIAK, D.; CYR, N.; DE NICOLA, R.; FUJITA, A.; GIBSON, B.; KELLY, G.; LOGSDON, D.; MCLEAN, D.; MORAN, C.; PACHELLO, C. The impact of serial repitching on brewing yeast performance: physiological, biochemical and genetic aspects. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 109, p. 257–264, 2003.

PUNČOCHÁŘOVÁ, L.; NOVÁK, J.; KŘÍŽEK, M. Influência da qualidade da água na produção de cerveja: aspectos microbiológicos e físico-químicos. **Journal of Brewing Science**, v. 72, n. 4, p. 345-356, 2019.

RABELLO, A. M. S. A influência do lúpulo na produção da cerveja. **Revista Brasileira de Tecnologia de Alimentos**, v. 1, n. 1, p. 1-10, 2009.

RODRIGUES, M.; BONETTI, L.; ROCHA, E. Análise da viabilidade e a curva de crescimento de uma linhagem industrial de *Saccharomyces cerevisiae* de uma destilaria de etanol do Pontal do Triângulo Mineiro. **Intercursos**, Ituiutaba, v. 13, n. 2, jul./dez. 2014.

ROSALIN, J. P. **A Trajetória da Cerveja no Brasil: uma Proposta de Aproximação com a Teoria da Sucessão dos Meios Geográficos**. **Geografia**, periódico do Departamento de Geociências da Universidade Estadual de Londrina (UEL), 2021.

SCIENCE HISTORY INSTITUTE. **Antoine-Laurent Lavoisier**. In: **Science History Institute**. [S.l.], 2025. Disponível em: <https://www.sciencehistory.org/education/scientific-biographies/antoine-laurent-lavoisier>. Acesso em: jul. 2025.

SILVA, A. A. **A Cerveja no Brasil Imperial: consumo, cultura e sociedade**. Rio de Janeiro: Mauad X, 2016.

SILVA, H. A.; LEITE, M. A.; PAULA, A. R. V. Cerveja e Sociedade. Contextos da Alimentação. **Revista de Comportamento, Cultura e Sociedade**, n. 2, v. 4, 2016.

SINDICERV. **Previsão para cerveja sem álcool no Brasil ultrapassa 1 bilhão de litros em 2026**. 2025. Disponível em: <https://sindicerv.com.br/noticias/previsao-para-cerveja-sem-alcool-no-brasil-ultrapassa-1-bilhao-de-litros-em-2026/>. Acesso em: 1 abr. 2025.

STATISTA. **Participação de mercado das principais cervejarias globais em 2023**. Disponível em: <https://www.statista.com/statistics/270275/market-share-of-the-leading-global-brewing-groups/>. Acesso em: 1 abr. 2025.

STEENACKERS, B.; DE COOMAN, L.; DE VOS, D. Chemical transformations of characteristic hop secondary metabolites in relation to beer properties and the brewing process: A review. **Food Chemistry**, v. 172, p. 742–756, 2015.

STEWART, G. G. The Horace Brown Medal Lecture: Forty Years of Brewing Research. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 115, n. 1, p. 3–29, 2009.

STRELLO, J.; NICOLINI, K.; REINEHR, C. O. **Viabilidade da levedura *Saccharomyces spp.* após os processos de congelamento e liofilização**. Trabalho técnico-científico do laboratório de Biotecnologia Ambiental, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, Rio de Janeiro, 2018.

UNGER, Richard W. **Beer in the Middle Ages and the Renaissance**. Philadelphia: University of Pennsylvania Press, 2013.

VIEIRA, E. dos S.; SILVA, F. de A.; SOUZA, M. A.; OLIVEIRA, M. S.; SANTOS, L. M. dos; COSTA, A. M. da. Reutilização de biomassa de levedura na produção de cerveja: perspectivas para redução de custos com manutenção da qualidade. **Food Science and Technology**, v. 33, p. 124–129, 2013.

WALKER, G. M.; STEWART, G. G. *Saccharomyces cerevisiae* in the Production of Fermented Beverages. **Beverages**, v. 2, n. 4, p. 30, 2016.

Wang, J.; Jiang, L.; Sun, H.; Wang, J.; Jiang, L.; Sun, H. Early evidence for beer drinking in a 9,000-year-old platform mound in southern China. **PLOS ONE**, v. 16, n. 8, e0255833, 2021.

WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. **Yeast: The Practical Guide to Beer Fermentation**. Boulder: Brewers Publications, 2010.

ZHAO, Jing; ZHAO, Yanan; LIU, Yulong; LIU, Zheng; LI, Jun; WANG, Guoqiang; WANG, Xiaoxue; LI, Xiaojuan; YANG, Xiang; WANG, Xiaobo; LIU, Xiaoyun; QIN, Wenxin; MA, Shengqiang. Regulation of ethanol stress response and tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 47, n. 8, p. 719–731, 2020.