

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO
SUDESTE DE MINAS GERAIS – CÂMPUS RIO POMBA**

**FLÁVIA MARTINS SENRA
RONALDO ELIAS DE MELLO JÚNIOR
VINÍCIUS ÁLVARES DA SILVA MELONI**

**Elaboração de cerveja artesanal utilizando
Saccharomyces boulardii e *Saccharomyces
cerevisiae***

**RIO POMBA
2013**

**FLÁVIA MARTINS SENRA
RONALDO ELIAS DE MELLO JÚNIOR
VINÍCIUS ÁLVARES DA SILVA MELONI**

**Elaboração de cerveja artesanal utilizando de
Saccharomyces boulardii e *Saccharomyces
cerevisiae***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Federal de
Educação Ciência e Tecnologia do
Sudeste de Minas – Câmpus Rio
Pomba, como requisito parcial para a
conclusão do Curso de Graduação
em Ciência e Tecnologia de
Alimentos.

Orientadora: Professora Doutora
Fabíola Cristina de Oliveira

Co-orientador (es): Professor Doutor
Maurílio Lopes Martins

Professora Mestre Fabiana de Oliveira
Martins

**RIO POMBA
2013**

**Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca Jofre Moreira -
IFET/RP Bibliotecária: Ana Carolina Souza Dutra – CRB 6/2977**

S478e Senra, Flávia Martins.

Elaboração de cerveja artesanal utilizando *Saccharomyces
boulardii* e *Saccharomyces cerevisiae*. / Flávia Martins
Senra, Ronaldo Elias de Mello Júnior, Vinicius Álvares da
Silva Meloni. Rio Pomba, 2013.
42f., il.

Orientador: Fabíola Cristina de Oliveira.
Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Federal do
Sudeste de Minas Gerais – Campus Rio Pomba.

1. Cerveja. 2. Leveduras. I. Oliveira, Fabíola Cristina. II.
Título.

CDD:663.5

FOLHA DE APROVAÇÃO

SENRA, Flávia Martins, MELLO JR, Ronaldo Elias, MELONI, Vinícius Álvares da Silva. Elaboração de cerveja artesanal utilizando *Saccharomyces boulardii* e *Saccharomyces cerevisiae*. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais – Campus Rio Pomba, realizada no 2º semestre de 2013.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Fabíola Cristina de Oliveira
Orientadora

Prof. Dr. Maurílio Lopes Martins
Membro convidado 1

Prof Dr. Maurício Henriques Louzada e Silva
Membro convidado 2

Aprovado (a) em: 04 / 12 / 2013 .

AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente a Deus, pela Sua presença constante em nossas vidas, sem que precisemos pedir, pelo auxílio nas nossas escolhas e por nos confortar nas horas difíceis.

As nossas famílias, por acreditarem e investirem em nós. Obrigado pelo amor, carinho e apoio incondicional a nós concedido durante toda esta caminhada.

Aos nossos amigos, pelas alegrias, tristezas e dores compartilhadas. Com vocês, as pausas entre um parágrafo e outro de produção, melhora tudo o que temos produzido na vida.

Aos nossos amores, pelo amor concedido e paciência nos nossos “maus” momentos. Amamos vocês! Graças a presença de vocês foi mais fácil transpor os dias de desânimo e cansaço.

A orientadora, professora Fabíola Cristina de Oliveira, pela paciência, dedicação, incentivo e sabedoria que muito nos auxiliou para conclusão deste trabalho.

Não podemos nos esquecer dos professores co-orientadores, Maurílio Lopes Martins e Fabiana de Oliveira Martins, pelas ajudas providenciais.

Aos técnicos dos laboratórios do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, em especial ao amigo Jhonatan Faria da Costa pela imensa colaboração.

Os nossos sinceros agradecimentos a todos os professores do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos e ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais – Câmpus Rio Pomba, pelas oportunidades concedidas.

Enfim, a todos vocês, MUITO OBRIGADO (a)!!

"Ninguém é tão grande que não possa aprender, e ninguém é tão pequeno que não possa ensinar". - Augusto Cury

“Se você quer ser bem sucedido, precisa ter dedicação total, buscar seu último limite e dar o melhor de si”. – Ayrton Senna

RESUMO

SENRA, Flávia Martins, MELLO JR, Ronaldo Elias, MELONI, Vinícius Álvares da Silva. **Elaboração de cerveja artesanal utilizando *Saccharomyces boulardii* e *Saccharomyces cerevisiae***. 42f. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais – *Campus* Rio Pomba, 2013.

Desde sua chegada ao Brasil, o perfil sensorial da cerveja tem sido gradualmente modificado, resultando em um produto mais leve e mais refrescante, menos encorpado, menos amargo e com menor teor alcoólico. Neste panorama de mudanças surge a cerveja artesanal, produzida por meio de processos extremamente controlados e ingredientes cuidadosamente selecionados. Cerveja é a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação da levedura, com adição de lúpulo. As leveduras mais utilizadas em cervejaria são de duas espécies *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces uvarum*. Na busca por inovações, utilizou-se neste trabalho *Saccharomyces boulardii*, que além de boa ação fermentativa, traz inúmeros benefícios à saúde. Desta forma, o presente trabalho visou à elaboração de cerveja artesanal a partir da utilização de *S. cerevisiae*, *S. boulardii* e da mistura destes micro-organismos em proporções iguais, além da avaliação das características físico-químicas, contagem de leveduras, aceitação sensorial e intenção de compra dos provadores. A cerveja foi elaborada a partir de kit comercial adquirido para a elaboração de 10 litros de cerveja Ale Blond, seguindo recomendações do fabricante, submetida a sete dias de processo fermentativo e quatorze dias de maturação. Para caracterização físico-química, foi possível observar que ao longo da fermentação houve declínio nos valores de pH e Sólidos Solúveis (Brix) e aumento nos valores de Teor Alcoólico, Acidez Total e Volátil. A contagem de células viáveis foi crescente ao longo da fermentação e maturação para as formulações em que as leveduras foram utilizadas isoladamente, onde o produto contendo *S. cerevisiae* apresentou contagens superiores a 10^7 UFC/mL e o contendo *S. boulardii* superiores a 10^9 UFC/mL. Entretanto, quando utilizadas em conjunto, as leveduras não apresentaram este comportamento, atingindo contagens finais inferiores a 10^5 UFC/mL. Para análise sensorial, observou-se que a formulação em que se utilizou *S. boulardii* obteve o maior escore para avaliação global diferindo-se significativamente das demais ($p < 0,05$). Para intenção de compra, a maioria dos provadores optou pelas opções de “Certamente compraria” ou “Provavelmente Compraria”. Desta forma, é possível concluir que todas as leveduras utilizadas apresentaram boa capacidade fermentativa e formação de compostos característicos da cerveja, resultando em uma boa aceitação sensorial e intenção de compra.

Palavras-chave: Leveduras, Probiótico, Fermentação.

ABSTRACT

Since his arrival in Brazil, the sensory profile of the beer has been gradually modified, resulting in a product lighter and more refreshing, less stocky, less bitter and less alcoholic. Against this background of changes Brew, produced by highly controlled processes and carefully selected ingredients arises. Beer is a beverage obtained by the alcoholic fermentation of brewer's wort derived from barley malt and water, by the action of yeast, with the addition of hops. The yeasts used in brewing are more than two species *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces uvarum*. In the search for innovations, was used in this work *Saccharomyces boulardii*, which besides good fermentative action brings numerous health benefits. Thus, the present work aimed at the development of craft beer from the use of *S. cerevisiae*, *S. boulardii* and a mixture of these micro-organisms in equal proportions to the assessment of physico-chemical characteristics, yeast count, sensory acceptance and purchase intent of assessors. The beer was prepared from a commercial kit purchased for the preparation of 10 liters of beer Ale Blond, following manufacturer's recommendations, submitted to seven days of fermentation and fourteen days old. For physicochemical characterization, it was observed that throughout the fermentation there was a decrease in pH and soluble solids (Brix) and higher amounts of Alcohol, Total and Volatile Acidity. The viable cell count was increased during the fermentation and maturation of the formulations in which the yeasts were used alone, where the product containing *S. cerevisiae* had counts exceeding 10^7 CFU/mL and containing *S. boulardii* exceeding 10^9 CFU/mL. However, when used in combination, the yeasts did not show this behavior, reaching final counts below 10^5 CFU/mL. For sensory evaluation, it was observed that the formulation used in which *S. boulardii* obtained the highest score for overall rating is differing significantly from the others ($p < 0.05$). To purchase intent, most of the panelists chose "Certainly buy" or "probably would buy" options. Thus, we conclude that all yeasts used showed good fermentative capacity and formation of characteristic compounds of beer, resulting in a good sensory acceptance and purchase intent.

Palavras-chave: Yeast, Probiotic, Fermentation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma básico utilizado no processamento de cerveja.....	12
Figura 2 – Equipamentos utilizados para elaboração de cerveja artesanal	123
Figura 3 – Etapa de brassagem	13
Figura 4 – Filtração do mosto	15
Figura 5 – Adição de lúpulo	15
Figura 6 – Adição de calda de açúcar	16
Figura 7 – Resfriamento do mosto	17
Figura 8 – Fluxograma básico utilizado do processamento de cerveja	17
Figura 9 – Inoculação do fermento.....	17
Figura 10 – Variação dos valores de pH ao longo da fermentação.....	19
Figura 11 – Variação dos teores de sólidos solúveis (°Brix) ao longo da fermentação	20
Figura 12 – Produção de álcool ao longo da fermentação	20
Figura 13 – Intenção de compra dos provadores.....	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Faixas de temperaturas utilizadas na brassagem	14
Tabela 2 – Tempo de fervura do lúpulo	16
Tabela 3 – Acidez ao longo do processo de fermentação de cerveja artesanal.....	21
Tabela 4 – Variação do pH, Brix e Teor alcoólico ao término da fermentação (7 dias) e ao final da maturação (14 dias)	22
Tabela 5 – Contagem de células viáveis (UFC/mL)	23
Tabela 6 – Qualidade sensorial das amostras de cerveja	24

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Legislação	3
2.2 Ingredientes cervejeiros	4
2.2.1 Água	4
2.2.2 Malte	5
2.2.3 Lúpulo.....	5
2.2.4 Levedura	6
2.2.4.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	7
2.2.4.2 <i>Saccharomyces boulardii</i>	8
2.2.5 Adjuntos cervejeiros.....	9
2.3 Características físico-químicas das cervejas	9
2.4 Fermentação Alcoólica	11
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1 Processamento	11
3.2 Caracterização Físico-Química da Cerveja Elaborada	18
3.3 Contagem de Células Viáveis de leveduras	18
3.4 Avaliação Sensorial e Determinação da Intenção de Compra	18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
5. CONCLUSÃO	25

1 INTRODUÇÃO

A cerveja é uma das bebidas mais antigas e mais consumidas em todo o mundo e é definida como bebida alcoólica obtida da fermentação de mosto de cereais maltados, com adição de lúpulo, podendo ser adicionada de outras matérias primas, cereais não maltados e aditivos.

A cerveja chegou ao Brasil em 1808, trazida pela família real portuguesa de mudança para o então Brasil colônia. Com a abertura dos portos às nações amigas de Portugal, a Inglaterra foi a primeira a introduzir a cerveja na antiga colônia. Desde então o perfil sensorial da cerveja no Brasil tem sido gradualmente modificado resultando em um produto mais leve e mais refrescante, menos encorpado, menos amargo e com menor teor alcoólico, fazendo uma combinação entre o perfil da cerveja europeia e americana (COUTINHO, 2013).

Apesar da variedade de cervejas existentes no Brasil, a Pilsen se destaca e representa 98% do total consumido. Nos últimos anos, a indústria cervejeira passou a apostar em bebidas mais sofisticadas, oferecendo ao consumidor uma ampla variedade de cervejas, difundindo a apreciação pelo sabor e qualidade do produto (SANTOS, 2008).

De acordo com dados fornecidos pelo Sistema de Controle de Produção de Bebidas – SICOBEBE, a produção de cerveja anual no Brasil subiu 3,37% em 2012, em relação a 2011. Em 2013, estima-se que esta produção mantenha-se estável, atingindo cerca de 13,6 bilhões de litros produzidos (SICOBEBE, 2013).

Segundo Stefenon (2011), importantes mudanças socioeconômicas, culturais, têm impactado o comportamento do consumidor e transformando os padrões de consumo. Desta forma, produtos como a cerveja apresenta destaque no uso de termos como artesanais, *premium*, *superpremium* e *gourmet* sendo utilizados para caracterizar produtos de qualidade superior. Neste contexto, surge o movimento do “*slow beer*” promovendo o resgate da história, da cultura e do prazer de se fazer e beber boas cervejas, associada à gastronomia de qualidade. Assim, ressurgem as cervejarias artesanais que têm como atração a produção da própria cerveja (FERREIRA e VASCONCELOS, 2011).

A cerveja artesanal é produzida por meio de processos extremamente controlados e ingredientes cuidadosamente selecionados, como mel, rapadura, alguns tipos de fruta, café e outras inúmeras combinações possíveis, que dão a bebida ares de “cerveja caseira” (POMPERMAYER, 2012).

Com aumento no consumo de cervejas artesanais surgem novas microcervejarias destacando-se como os principais estados produtores, São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Paraná e Goiás (COUTINHO, 2013).

A bebida de microcervejaria caracteriza-se por ser um produto mais encorpado e de aroma e sabor mais pronunciados que as demais. Estas características, provenientes, dentre outros fatores, da utilização de variedades específicas de lúpulo, justificam o crescimento acentuado deste segmento (KEUKELEIRE, 2000).

No processo de fabricação de cerveja, sendo ele artesanal, e até mesmo a níveis industriais é necessário o uso de leveduras para realização da fermentação alcoólica. Existem várias estirpes de leveduras para a fabricação de cerveja, e cada uma produz um perfil diferente de sabor. Desta forma, a escolha da levedura pode determinar o sabor e ser a causa da diferença entre os diversos estilos desta bebida (BORTOLI et al., 2013).

Segundo Oetterer e Alcarde (2006), as leveduras mais utilizadas nos processos de elaboração de cerveja são as espécies *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces uvarum*. Porém a levedura da espécie *Saccharomyces boulardii* também apresenta potencial fermentativo, podendo ser utilizada no processamento de cerveja.

Portanto, o presente trabalho teve por objetivo elaborar cerveja artesanal a partir da utilização de *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces boulardii*, avaliar suas características físico-químicas, assim como a contagem de leveduras, avaliação da aceitação sensorial e intenção de compra dos produtos obtidos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Legislação

Cerveja é a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação da levedura, com adição de lúpulo (BRASIL, 2009). Em relação aos ingredientes opcionais, destaca-se extrato de malte, adjuntos cervejeiros, sucos ou extratos de frutas.

A legislação brasileira permite a substituição parcial do malte de cevada por adjuntos cervejeiros, cujo emprego não poderá ser superior a quarenta e cinco por cento em relação ao extrato primitivo. Consideram-se adjuntos cervejeiros a cevada cervejeira e os demais cereais aptos para o consumo humano, malteados ou não-malteados, bem como os amidos e açúcares de origem vegetal (BRASIL, 2009).

Conforme Brasil (2009) é possível classificar a cerveja em inúmeras classes, de acordo com suas características.

Em relação ao extrato primitivo ou original, pode-se dizer Cerveja Leve a bebida que contém valor igual ou superior a 5% e inferior a 10,5% de extrato primitivo em peso. Cerveja comum deve conter extrato primitivo igual ou superior a 10,5% e inferior a 12% em peso, enquanto a Cerveja Extra deve conter extrato primitivo igual ou superior a 12% ou igual a 14% em peso. Já a Cerveja Forte deve conter extrato primitivo superior 14% em peso (BRASIL, 2009).

Em relação ao teor alcoólico, Cerveja sem Álcool deve conter no máximo 0,5% de álcool em volume e Cerveja com Álcool deve apresentar teor alcoólico igual ou superior a 0,5% em volume (BRASIL, 2009).

Com relação à proporção de matérias-primas, a Cerveja deve ser produzida a partir de mosto com um mínimo de 55% em peso de extrato primitivo, exclusivamente proveniente de cevada malteada. A cerveja com extrato primitivo oriundo de 100% de cevada malteada deve receber o nome de Cerveja Puro Malte. Já a cerveja com proporção de malte de cevada maior que 20% e menor que 55% em peso sobre extrato primitivo deve ser classificadas como cerveja seguida do nome do vegetal predominante (BRASIL, 2009).

Quanto à fermentação, a cerveja pode ser classificada como de “baixa fermentação” ou “alta fermentação” (BRASIL, 2009). As cervejas de alta

fermentação são denominadas tipo Ale e a fermentação é realizada por leveduras ativas em temperatura de 20 °C a 25 °C que flutuam após fermentar o mosto, gerando um produto de cor cobre avermelhada, de sabor forte, ligeiramente ácido e com teor alcoólico entre 4% e 8%. Já as cervejas de baixa fermentação denominadas tipo lager são elaboradas a partir de leveduras ativas em temperatura de 9 °C e 14 °C que depositam no fundo do tanque (BORTOLI et al., 2013).

2.2 Ingredientes cervejeiros

2.2.1 Água

A água é, pela quantidade, a principal matéria-prima no decorrer de um processo cervejeiro, pois, aproximadamente, 92% a 95% do peso da bebida são constituídos de água (VENTURINI FILHO, 2010).

Geralmente a instalação industrial é localizada de acordo com o tipo de cerveja que se deseja produzir, ou seja, procura-se o local onde se encontra a água mais própria possível para a produção da cerveja desejada (SCHMITT, 2010). Tal fato é explicado por Schmitt (2010), pois, se torna mais viável economicamente instalar a empresa em local estratégico do que realizar o tratamento da água.

Toda água encontrada na natureza contém sais dissolvidos em quantidade e qualidade diferenciados. Se a quantidade de sais for alta, essa água pode ter sabor característico e maior dureza. Além dos sais, a água pode ter compostos orgânicos e gases dissolvidos que podem atribuir sabor e odor. Os sais dissolvidos e compostos orgânicos podem interferir nos processos enzimáticos e químicos da fermentação. O pH também é considerado muito importante, se for alcalino poderá dissolver grandes quantidades de matérias indesejáveis das cascas e do malte. A reação ácida é necessária para obter a máxima atividade enzimática. Uma água de boa qualidade deve ser incolor, inodora, com pH entre 6,5-7,0 e livre de qualquer sabor estranho (BORTOLI et al., 2013).

Venturini Filho (2010) destaca que a água para cervejaria deve seguir padrões de potabilidade, apresentar alcalinidade de 50 mg/L ou preferencialmente inferior a 25 mg/L, além disso, deve possuir concentração de cálcio ao redor de 50 mg/L

2.2.2 Malte

Malte é o termo usado para indicar cereais que passaram pelo processo de malteação (SCHMITT, 2010). Venturini Filho (2010); Morado (2009) destacam que o malte pode ser definido como matéria-prima obtida da germinação, sob condições controladas, de qualquer cereal, porém, nem todo cereal pode ser utilizado para a produção de cervejas. Neste processo ocorrem transformações internas no grão, deixando-os com uma carga bastante grande de enzimas que, posteriormente, reduzirão amido em açúcar, que por sua vez será o substrato para o crescimento dos micro-organismos constituintes do fermento. Assim, os mesmos produzirão álcool, gás carbônico e outros tantos subprodutos de fermentação da cerveja (SCHMITT, 2010).

Para ser submetido ao processo de malteação, o cereal a ser utilizado deve apresentar características próprias: teor de proteína, taxa de gordura, rendimento de extração e capacidade de germinação conforme descrito em trabalhos de Venturini Filho (2010); Morado (2009).

Conforme Morado (2009) existem algumas características específicas da cevada que a torna o cereal preferível e mais utilizado no processo de malteação em relação aos outros cereais, além de ser economicamente mais viável. Entre estas características pode-se destacar elevado teor de amido e de enzimas após a malteação (principalmente amilase), constitui-se de outras proteínas que proporcionam à cerveja um equilíbrio nos efeitos em relação à espuma, ao corpo e a sua estabilidade coloidal (essencial à manutenção das características do produto), contém também um baixo teor de lipídeos (facilita na manutenção da estabilidade da bebida). Outra característica primordial da cevada é a malteação simples (MORADO, 2009).

2.2.3 Lúpulo

O Lúpulo (*Humulus lupulus*), trata-se de uma erva aromática usada na fabricação de cervejas, sendo uma planta de difícil cultivo, típica de regiões frias e dioica, ou seja, possui flores femininas e masculinas na mesma planta. A lupulina, substância usada na produção da cerveja, é encontrada na parte feminina da flor.

Os óleos essenciais, as substâncias minerais, os polifenóis e resinas amargas são as substâncias mais importantes encontradas no lúpulo (VENTURINI FILHO, 2010)

Apesar de serem altamente voláteis, os óleos essenciais conferem ao mosto e à cerveja o caráter aromático do lúpulo e as resinas amargas conferem amargor (VENTURINI FILHO, 2010).

No entanto, ao contrário do malte, não exerce influências no teor alcoólico e nem sob o corpo da cerveja, conforme mencionado por Morado (2009).

Comercialmente o lúpulo pode ser encontrado *in natura*, na forma de *pellets* ou extratos.

2.2.4 Levedura

O gênero de levedura que se destaca nas produções de etanol é o *Saccharomyces*, este fato deve-se a ótima atuação das espécies pertencentes a este gênero na fermentação alcoólica (GAVA, 2008).

A espécie *Saccharomyces cerevisiae* tem metabolismo anaeróbico facultativo, porém é capaz de sobreviver dependendo exclusivamente de seu metabolismo fermentativo, ou seja, em anaerobiose (NASCIMENTO, 2012).

O método de preparo do substrato leva em consideração o fato de a levedura passar por uma fase de adaptação no mosto, antes de iniciar eficientemente a fermentação. A fase de adaptação é compreendida como predominantemente aeróbia, onde as leveduras se reproduzem mais eficientemente utilizando o oxigênio, proteínas e outras substâncias, aumentando de quantidade de 2 a 6 vezes. Após isso, a fase anaeróbia é predominante, onde as leveduras realizam a fermentação propriamente dita, convertendo os açúcares presentes no mosto em CO₂ e álcool (SANTOS, 2005).

Apesar dos vários estudos relacionados a outros micro-organismos para produção de etanol, as leveduras deste gênero ainda são mais utilizadas devido a sua alta resistência ao processo (STECEKLBERG, 2001).

As células de leveduras podem crescer numa ampla faixa de pH ácido, além de suportar 18% de etanol e 55-60% de sacarose no meio (JAY, 2005). Para Nascimento (2012), as leveduras utilizadas em processos fermentativos devem ser

resistentes, suportar elevadas temperaturas e meios com grandes variações de pH, além disso, possuir alto rendimento em etanol e sobretudo, apresentar boa viabilidade.

As leveduras possuem a capacidade de metabolizar eficientemente os constituintes do mosto que é um caldo resultante da mistura fervida de malte e água, rico em açúcares fermentescíveis (OLIVEIRA, 2011).

Morado (2009) destaca que no processo de fabricação de cerveja são geralmente utilizadas as leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, e suas variações como *S. carlsbergensis* ou *uvarum* ou até mesmo outras leveduras em casos raros.

2.2.4.1 *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae é uma espécie de levedura utilizada há milhares de anos na panificação e na fermentação de bebidas alcoólicas, sendo uma levedura fermentativa por excelência, tendo sido utilizada igualmente nos últimos anos para produção de bioetanol (VIANA, 2009).

São organismos anaeróbios facultativos, isto é, produzem energia a partir de compostos de carbono (carboidratos), tanto em condições aeróbias como em condições anaeróbias. Nas condições anaeróbias, especificamente, as células da levedura incorporam açúcares simples, como glicose e maltose, e produzem dióxido de carbono e álcool como produtos residuais (além de ésteres, álcoois superiores, cetonas, vários fenóis e ácidos graxos). (CARVALHO, 2007).

Segundo Pacheco (2010), a levedura *Saccharomyces cerevisiae* é um micro-organismo de alta eficiência fermentativa, sendo possível selecionar estirpes com características que as tornam produtoras superiores de etanol e mais tolerante aos produtos da fermentação. Estudos relacionados com a melhoria das características da levedura ou com o

processo de produção de etanol têm sido apresentados na literatura com o objetivo de aumentar o rendimento e a produtividade dos processos fermentativos (PACHECO, 2010).

2.2.4.2 *Saccharomyces boulardii*

Em meados de 1920 o microbiologista Henri Boulard na Indochina descobriu a espécie *S. boulardii* presente na casca de lichia, devido à informação de que a população infectada por cólera preparava chá com a casca da fruta para aliviar os sintomas e até mesmo a diarreia, correlacionando, portanto com a presença da levedura, conforme descrito por Martins, Barbosa e Nicoli (2009).

Entre as formas comerciais de administração de *S. boulardii* como agente terapêutico está o produto liofilizado, na forma de cápsulas (MULLER, 2006).

Esta levedura não é um constituinte da microbiota normal, sobrevive no trato gastrointestinal baixo após sua administração oral, podendo, portanto, ser recuperado vivo nas fezes (ROFFE, 1996).

A resistência desta levedura a baixos valores de pH permite sua sobrevivência na passagem pelo estômago, o que aumenta a quantidade de células de *S. boulardii* que alcança o intestino e contribui, dessa forma, para a sua atividade probiótica (EDWARDSINGRAM et al., 2007).

Estudos demonstram a eficácia desta levedura para problemas gastrointestinais ocasionados por diversos agentes etiológicos (MULLER, 2006).

O micro-organismo de efeito probiótico é aquele que traz benefício para o hospedeiro, ao ser ingerido, porém, não pertencem à microbiota intestinal da espécie consumidora. Segundo essa definição, a levedura *S. boulardii* não é considerada probiótica, mas, tem efeito probiótico (LOPES; PINTO, 2010).

De acordo com a classificação de Brasil (2008), probióticos são microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo.

Badaró et al. (2008) mencionam que as células probióticas depois de ingeridas devem ser capazes de sobreviverem às condições de estresse presentes no trato gastrointestinal e manter sua viabilidade e atividade metabólica no intestino para exercerem os efeitos benéficos aos hospedeiros.

Para um microrganismo ser considerado probiótico, o mesmo não pode ser patogênico, deve ser Gram-positivo e produtor de ácidos, além, de ser ácido resistente, deve apresentar especificidade ao hospedeiro, apresentar excreção de

fator anti-*E.coli*, ser resistente à bile e viável/estável, conforme descrito por Santos et al. (2003 não está citado nas referências) ; Brizuela et al. (2001).

Para garantir um efeito contínuo, os probióticos devem ser ingeridos diariamente (BADARÓ et al., 2008).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2008) para um produto ser considerado probiótico o mesmo deve apresentar um contagem mínima de 10^8 a 10^9 UFC (Unidade Formadora de Colônia) por porção.

2.2.5 Adjuntos cervejeiros

Adjuntos podem ser genericamente definidos como produtos ou materiais que fornecem carboidratos para o mosto cervejeiro, substituindo parcialmente o malte, desde que permitidos por lei. Em vários países, a substituição parcial do malte por adjuntos na fabricação de cervejas é permitida por lei, sendo vários os tipos de matérias-primas autorizados (SCHMITT, 2010). De acordo com a legislação brasileira o emprego de adjuntos cervejeiros não poderá, em seu conjunto, ser superior a 45% em relação ao extrato primitivo (BRASIL, 2009).

Oliveira (2011) descreve em seu trabalho que adjuntos cervejeiros como alguns cereais (trigo, arroz, milho e sorgo), além do açúcar e xarope podem ser usados como adjuntos substituindo o malte. Os adjuntos derivados de cereal são definidos como fonte de carboidratos não malteados, exercendo papel complementar na produção do mosto, além de possuírem um elevado teor de amido e compostos proteicos com pouca solubilidade (OLIVEIRA, 2011).

2.3 Características físico-químicas das cervejas

Como todo alimento, é extremamente importante o conhecimento das características da cerveja, para ter um padrão de identidade, viabilizando a qualidade do produto. Além disso, no caso de cerveja, alguns parâmetros físico-químicos são utilizados por legislações oficiais para estabelecer classificações à bebida.

A cerveja é um produto suavemente ácido, de forma que o malte de cevada clássica possui pH na faixa de 4-5 e as tipo “ale” variam o pH de 3-6 (MINIM,

ARAÚJO e SILVA, 2003). O decréscimo do pH se dá pela produção de ácidos orgânicos durante o processo fermentativo, conforme Reinold (1997).

A determinação do pH tem o objetivo de verificar se o mosto tem condições de proporcionar um meio favorável para o desenvolvimento das leveduras para a fermentação, atuação enzimática e maturação do produto final (SLEIMAN e VENTURINI FILHO, 2004).

A avaliação do pH e da acidez ao longo do processamento da bebida permitem realizar possíveis ajustes durante o processamento e avaliar a qualidade do produto (D'AVILA et al., 2009). Além disso, de acordo com estes autores, o pH é um fator de grande importância para que o processo de mosturação ocorra de maneira adequada, uma vez que existem faixas ótimas de pH para a ação de cada enzima.

A determinação de acidez total titulável corresponde à quantificação de todos os ácidos do produto, dissociados e não dissociados (ZENEBO e PASCUET, 2004).

Segundo Minim, Araújo e Silva (2003), os ácidos orgânicos oriundos das leveduras, são os responsáveis pela acidez da cerveja. Os mesmos autores ainda mencionam que em aspectos sensoriais, os ácidos orgânicos exercem a função de elevar a acidez da cerveja para um nível agradável ao gosto humano.

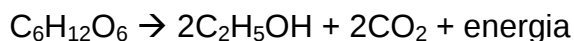
Durante o processo fermentativo pode haver contaminação com bactérias acéticas pode aumentar o teor de ácidos voláteis, já que estas convertem o etanol em ácido acético (RODRIGUES, MARINHO e SIQUEIRA, 2009).

A maioria dos ácidos presentes na cerveja já existia no mosto, porém em proporções distintas, e suas concentrações variam em função da matéria-prima, da variedade do malte e das condições de maltagem (POLLOCK, 1981).

Uma característica importante no processo de fabricação de cerveja é a quantidade de sólidos solúveis (°Brix) presentes no mosto. Tais constituintes se tornam substrato para o processo fermentativo, portanto, se faz extremamente importante sua quantificação.

2.4 Fermentação Alcoólica

Kuck (2008) destaca que a fermentação alcoólica é um processo anaeróbico, realizado pelas leveduras, onde há a conversão de carboidratos em etanol e gás carbônico, conforme representado na equação abaixo:



A fermentação alcoólica é a ação das leveduras sobre açúcares fermentescíveis contidos em uma solução (PACHECO, 2010). É um processo biológico no qual a energia fornecida por reações de oxidação parcial pode ser utilizada para o crescimento de leveduras e a oxidação parcial anaeróbica da hexose e produção de álcool e CO_2 (LIMA e MARCONDES, 2002).

Segundo Santos (2008), as leveduras podem fazer uso tanto da fermentação (em condições de anaerobiose) como da respiração (em condições de aerobiose) para obtenção de energia química através da degradação de açúcares.

Em condições de anaerobiose a levedura desvia seu metabolismo para a fermentação alcoólica, com produção de etanol. Entretanto em condições de aerobiose, a levedura realiza a respiração (SANTOS, 2008).

Segundo Lima, Basso e Amorim (2001) os processos fermentativos podem ocorrer de forma contínuo e descontínuos em que o primeiro é relativamente recente e o último subdivide em quatro tipos de fermentação (sistema de cortes, sistema de reaproveitamento do inóculo, sistema com culturas puras e sistema de recuperação de culturas).

A fermentação de processo descontínuo, também conhecida por fermentação em batelada, ocorre quando o meio a ser fermentado e os micro-organismos a serem inoculados são adicionados juntos à dorna (BARBOSA, 2012).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Processamento

Este trabalho foi realizado no Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, Câmpus Rio Pomba.

A elaboração das cervejas foi realizada na Unidade de Processamento de Frutas e Hortaliças, seguindo as etapas descritas na Figura 1.

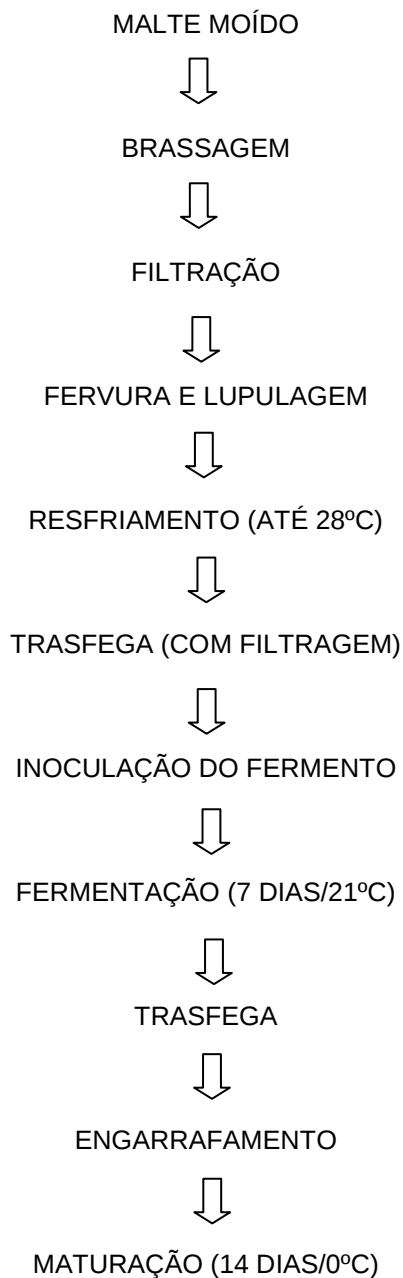


Figura 1 – Fluxograma básico utilizado do processamento de cerveja

A cerveja foi elaborada a partir de kit comercial adquirido para a elaboração de 10 litros de cerveja Ale Blond, que apresenta aparência clara e brilhante, com corpo médio, sendo produzida em processo de alta fermentação.

Todos os equipamentos e utensílios utilizados foram previamente higienizados com água e sabão, enxaguados com água corrente e sanitizados em água fervente. Na Figura 2 estão apresentados os equipamentos utilizados durante o processamento.



Figura 2 – Equipamentos utilizados para elaboração de cerveja artesanal.

Após a higienização, iniciou-se o processamento com a adição do malte moído (2 kg) em água mineral (aquecida até 45°C) na proporção de 3 litros de água para cada quilograma de malte moído. Posteriormente, foi realizada a etapa de brassagem (Figura 3), com a finalidade de promover a gomificação além de facilitar a hidrólise do amido em açúcares fermentescíveis.



Figura 3 – Etapa de brassagem

Na etapa de brassagem controlou-se temperatura e tempo, como demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 - Faixas de temperaturas utilizadas na brassagem

Faixa de Temperatura	Tempo
40°C – 50°C	15 minutos
50°C – 60°C	30 minutos
60°C – 72°C	20 minutos

O controle de temperatura tem por finalidade definir as características da cerveja. Na primeira faixa de temperatura (40°C-50°C), ocorre a etapa de ativação enzimática, onde ocorre a solubilização dos grãos de amido e a liberação de enzimas para solução. Na segunda faixa, compreendida de 50°C a 60°C, ocorre o período de repouso proteolítico, com a quebra das proteínas do malte pela ação das proteases, com a formação de peptídeos e aminoácidos. Nessa faixa é possível regular a espuma e o brilho da cerveja. Já na terceira fase de aquecimento na brassagem, ocorre a sacarificação, onde, por ação da alfa e beta-amilases, o amido é convertido em açúcares fermentescíveis.

Foi realizado após os tempos de 30 e 20 minutos o teste do lugol, para a verificação da conversão do amido em açúcares, que serão utilizados na fermentação. Essa etapa é de grande importância e cada tipo de malte utilizado apresenta suas faixas de temperatura e tempo para que ocorra essa conversão de amido em açúcares. Os tempos e as temperaturas seguidas foram indicados pelo fornecedor do kit.

Após a realização do teste e a percepção da inexistência de amidos, o mosto foi submetido a um aquecimento até 78°C por 3 minutos, para a inativação das enzimas, estabilizando o resultado desejado. Em seguida, foi realizada a filtração do mosto, para separar o mosto líquido do bagaço de malte (Figura 4). Nessa etapa, aqueceu-se 4 litros de água mineral (70°C) para ser adicionada lentamente durante a filtração com o objetivo de auxiliar na extração de parte dos açúcares embebidos nas cascas. A etapa foi realizada utilizando um caldeirão com fundo falso, onde o mosto líquido foi coletado em outro recipiente, ficando apenas o bagaço do malte no caldeirão.



Figura 4 – Filtração do mosto

Após a filtração, o mosto foi submetido à etapa de fervura. Essa etapa ocorreu de forma intensa, uma vez que é responsável pela esterilização do mosto, com a eliminação de micro-organismos que poderiam concorrer com a levedura na fermentação além de favorecer a cor e o sabor da bebida. Nessa etapa foi realizado a lupulagem (adição do lúpulo), para conferir o amargor e aroma, conforme demonstrado na Figura 5. A quantidade de lúpulo adicionado foi determinada pelo fabricante.



Figura 5 – Adição de lúpulo.

A adição do lúpulo foi realizada em 3 estágios, com 3 tempos de fervura distintos, segundo recomendação do fabricante, conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 - Tempo de fervura do lúpulo

Lúpulo	Tempo de Fervura
1º	45 minutos
2º	30 minutos
3º	15 minutos

O 1º lúpulo é adicionado com o intuito de conferir aroma; o 2º é responsável pelo aroma e pelo sabor, enquanto o 3º favorece o sabor. Junto com a adição do 3º lúpulo, adicionou-se uma calda de açúcar, que serviu de substrato para as leveduras na etapa de fermentação (250 gramas de açúcar e 800 mL de água mineral para diluir) (Figura 6).



Figura 6 – Adição de calda de açúcar

Terminada a fervura, realizou-se o Wirlpool (redimentação), que consiste em mexer o mosto com uma colher grande de nylon, formando um redemoinho com a finalidade de facilitar na decantação do trub quente, que consiste em um material mucilaginoso precipitado durante a fervura formado de resinas de lúpulo, proteínas coaguladas e polifenóis. A retirada desse material confere à cerveja maior estabilidade no brilho e um sabor mais suave.

Posteriormente, foi feito o resfriamento do mosto em um chiller, até temperatura entre 27°C – 28°C, como mostrado na Figura 7. Quanto mais rápido for realizado o resfriamento, melhor o desempenho do processo, evitando a formação de aromas indesejáveis ou a contaminação do mosto.



Figura 7 – Resfriamento do mosto

O volume do mosto foi corrigido para 10 litros com a adição de água mineral. Em seguida, foi realizada a trasfega com filtragem, utilizando tecido filtrante previamente higienizado, para o fermentador (Figura 8). Com o mosto filtrado, foi feito a adição do fermento ativado em 1 litro de mosto resfriado anteriormente (Figura 9). Em seguida, o fermentador foi levado para estufa do tipo BOD com temperatura controlada (21°C) por 7 dias, para que a fermentação fosse realizada. No sexto dia, o fermentador foi retirado da BOD e mantido sob refrigeração, com a finalidade de promover a decantação das leveduras, favorecendo a clarificação da mesma, etapa essa que será concluída na maturação.



Figura 8 – Trásfega com filtragem



Figura 9 – Inoculação do fermento

Após os 7 dias de fermentação, foi adicionada à cerveja uma calda de açúcar (6 gramas de açúcar para cada litro de mosto), que serviu de substrato para a refermentação da bebida durante a etapa de maturação, com o objetivo de produzir CO₂. Posteriormente, a cerveja foi acondicionada em garrafas de vidro, previamente

higienizadas e tampadas com tampas de alumínio também higienizadas com água, sabão e água fervente.

O sistema utilizado para o fechamento das garrafas foi o manual, com o auxílio de equipamento próprio adquirido pelo fornecedor do kit.

As garrafas foram levadas para maturação em geladeira pelo período de 14 dias, favorecendo a clarificação da mesma.

Durante os 7 dias de fermentação e após a etapa de maturação, foram realizadas as análises físico-químicas e microbiológicas, para controle do processo, além de avaliar a viabilidade das leveduras.

Neste estudo foram realizadas 3 tratamentos, que seguiram o mesmo fluxograma, com alteração apenas nas espécies de leveduras utilizadas: *S. cerevisiae*, *S. boulardii* e uma mistura de ambas em proporções iguais (1:1).

3.2 Caracterização Físico-Química da Cerveja Elaborada

Foram realizadas análises para determinação do Teor de Sólidos Solúveis (°Brix), pH, Acidez Volátil, Acidez Total e Teor Alcoólico durante o processo de fermentação. Todas as análises foram realizadas de acordo com a metodologia descrita pelos Métodos Físico-Químicos para Análises de Alimentos de Zenebon e Pascuet (2004). As análises foram realizadas nos tempos de 0, 2, 4 e 7 dias de fermentação e 14 dias após o término da fermentação.

3.3 Contagem de Células Viáveis de Leveduras

Para a contagem de células viáveis utilizou-se a técnica *spread plate*, onde 0,1 ml de cada diluição foram espalhadas com auxílio de alça de Drigalsky na superfície de placas de Petri contendo Ágar Sabouraud, seguido de incubação a 37°C por 72 horas (MARTINS et al., 2005).

3.4 Avaliação Sensorial e Determinação da Intenção de Compra

A aceitabilidade do produto foi avaliada por 50 provadores não treinados, de ambos os sexos, com idade superior a 18 anos, do IF Sudeste MG, Câmpus Rio

Pomba. Para este teste foi utilizada Escala Hedônica de 9 pontos, variando de “gostei extremamente” a “desgostei extremamente”. Foram avaliados os atributos de cor, sabor, odor e avaliação global (MINIM, 2006).

Para obtenção dos resultados da Intenção de Compra dos 3 tratamentos de cerveja foi aplicada Escala de Atitude e/ou de Intenção de 5 pontos, variando de “certamente não compraria” a “certamente compraria” (MINIM, 2006). Os dados tabulados foram submetidos à análise estatística através de uma cópia não registrada distribuída gratuitamente do programa ASSISTAT 7.6.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao longo do tempo da fermentação foi possível observar que os valores de pH do mosto foram diminuindo conforme apresentado na Figura 10. No início da fermentação é possível observar faixas de pH entre 5,40 e 6,00 para todas as formulações, e ao término da fermentação, faixas entre 4,0 e 4,50. Entretanto, a formulação em que se utilizou *S. cerevisiae* provocou um leve aumento de pH ao longo dos dois primeiros dias. Esta elevação pode estar relacionada à fase de adaptação da levedura ao mosto. Resultados semelhantes foram encontrados por Carvalho (2007), o qual afirmou que o processo fermentativo promove algumas reações físico-químicas causando reduções nas faixas de pH, de 5,40 ~ 5,7 para 4,0 ~ 4,6; redução do oxigênio dissolvido e alterações na cor provocadas pela queda do pH.

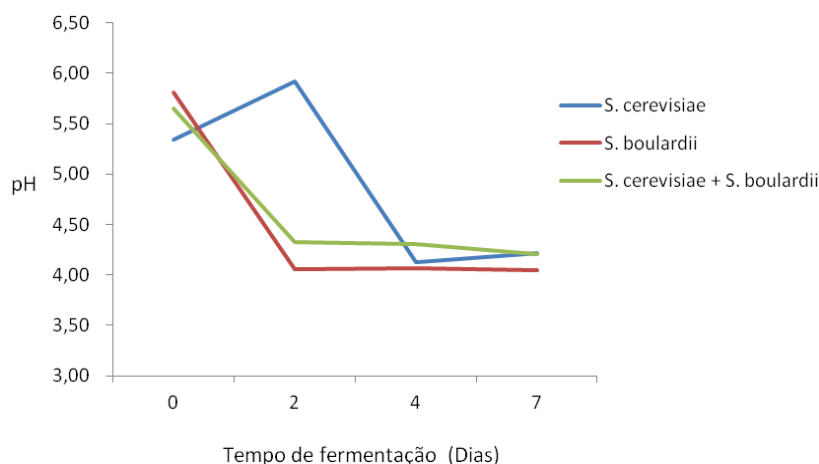


Figura 10 - Variação do pH durante período de fermentação

A fermentação é responsável pela formação do álcool e do gás carbônico. Entretanto, muitos outros compostos são formados neste período, dentre eles os ácidos orgânicos, nos quais se destacam o ácido acético e fórmico, piruvato, malato, D e L lactato e citrato. Além destes ácidos também são formados o ácido succínico, piroglutâmico e málico que contribuem para formação de aromas e sabores da cerveja; também responsáveis pela redução do pH, e consequente melhora na estabilidade microbiológica, além de conferirem amargor mais agradável e cor mais clara a cerveja (ARAUJO, SILVA e MINIM, 2003; REINOLD 1997).

Durante a fermentação houve decréscimo de aproximadamente 50% do teor de açúcares para as amostras dos três tratamentos (Figura 11). Em paralelo ao consumo dos açúcares houve aumento no teor alcoólico (Figura 12).

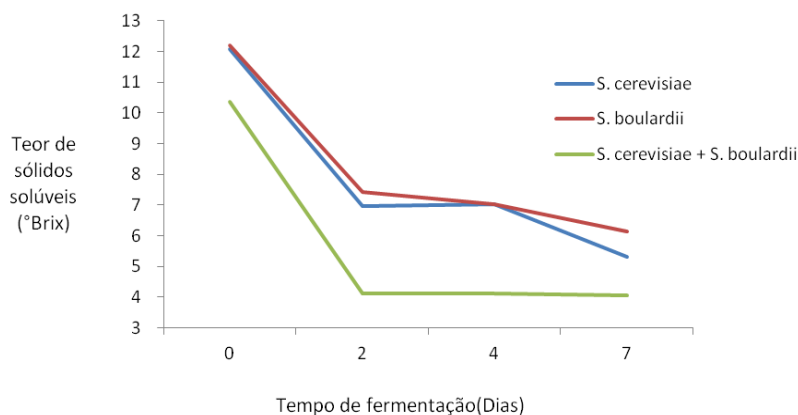


Figura 11 - Variação dos valores do Brix ao longo da fermentação

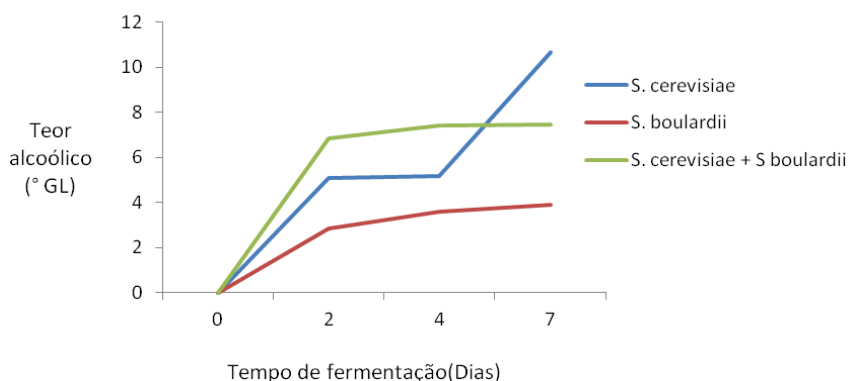


Figura 12 - Variação dos valores do Brix ao longo da fermentação

Este resultado está de acordo com o esperado, uma vez que se trata da produção de cerveja com uso de *S. cerevisiae* e *S. boulardii*, ambas de alta

fermentação e em condições anaeróbias. Assim, a principal reação é a conversão dos açúcares do mosto em etanol e gás carbônico, entretanto, esta reação não é única. A cerveja é, na verdade, um coquetel de substâncias químicas (diacetonas, alcoóis superiores, aldeídos, ésteres e ácidos carboxílicos). As formações desses subprodutos variam de acordo com a levedura utilizada e as condições da fermentação (BANFORTH, 2003).

Um poder fermentativo elevado tende a deixar o mosto com açúcares residuais mínimos e uma acidez volátil baixa. A acidez volátil está diretamente ligada à presença de ácido acético, variando sensivelmente com os tipos de leveduras utilizadas na fermentação. A maior parte dos ácidos voláteis se forma nos primeiros estágios da fermentação, por descarboxilação oxidativa do ácido pirúvico, ou de forma simultânea a da biossíntese do ácido fórmico, variando sua concentração com a variação do pH (LEPE et al., 1997).

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados das análises de acidez total, acidez e acidez volátil durante o processo fermentativo e após os 14 dias de maturação.

Tabela 3 – Acidez ao longo do processo de fermentação de cerveja artesanal

Tempo (dias)	<i>S. cerevisiae</i>		<i>S. boulardii</i>		<i>S. cerevisiae</i> + <i>S. boulardii</i>	
	Acidez Total (meq/L)	Acidez Volátil (meq/L)	Acidez Total (meq/L)	Acidez Volátil (meq/L)	Acidez Total (meq/L)	Acidez Volátil (meq/L)
0	24,68±3,09	0,45±0,06	13,03±1,18	0,45±0,06	17,14±0,59	0,79±0,06
2	39,42±1,19	0,45±0,06	28,11±1,18	0,38±0,06	32,57±1,19	1,37±0,06
4	22,97±0,59	0,55±0,06	29,14±1,57	0,68±0,06	30,85±1,03	1,40±0,06
7	33,60±3,89	0,55±0,06	28,11±1,57	0,86±0,06	27,43±1,57	1,82±0,31
21*	26,74±2,06	0,72±0,10	20,91±1,18	0,89±0,06	15,08±1,57	1,40±0,21

* 14 dias após maturação

Observou-se durante o processo de fermentação, que o mosto submetido à presença de *S. cerevisiae* em conjunto com *S. boulardii* atingiu valores mais altos de acidez volátil do que os demais mostos, onde as leveduras atuaram sozinhas.

O ácido carbônico produzido na fermentação eleva a acidez da bebida, entretanto, à maioria dos ácidos presentes na cerveja já existe no mosto em

proporções distintas, e suas concentrações variam em função da matéria-prima, da variedade do malte e das condições de maltagem (PRIEST; STEWART, 2005). Os demais ácidos produzidos durante fermentação também irão influenciar na acidez total do meio.

Para os valores de acidez foi possível observar variações ao longo do processo fermentativo. Entretanto, após o término da maturação, os valores de acidez total reduziram. Já os valores de acidez volátil não sofreram grandes variações. Estes resultados estão de acordo com contidos na literatura onde é relatado que o decréscimo do valor de acidez total na cerveja maturada e o aumento da concentração de ésteres formada a partir da reação dos ácidos orgânicos com alcoóis superiores. Estes compostos são os principais portadores do aroma da cerveja formados durante a fermentação (REINOLD, 1997). Desta forma, quanto maior for a concentração de ácidos orgânicos e ésteres, maior será a acidez volátil e consequentemente menor será a acidez total.

Após o período de fermentação, o produto foi envasado e mantido por 14 dias de maturação sob refrigeração. A etapa de maturação é um repouso prolongado da cerveja, em que ocorrem diversas reações químicas, resultando nos seguintes processos: fermentação secundária, saturação com CO₂, clarificação e formação dos componentes de sabor e aroma (REINOLD, 1997).

Na Tabela 4 estão apresentados os valores de °Brix e teor alcoólico após o término da fermentação e após a etapa de maturação, para as cervejas elaboradas.

Tabela 4 – Variação do °Brix e Teor alcoólico ao término da fermentação (7 dias) e ao final da maturação (14 dias)

Tempo (dias)	<i>S. cerevisiae</i>		<i>S. bouldarii</i>		<i>S. cerevisiae</i> + <i>S. bouldarii</i>	
	°Brix	Teor alcoólico (°GL)	°Brix	Teor alcoólico (°GL)	°Brix	Teor alcoólico (°GL)
7	5,30±0.17	10,67±0.50	6,13±0,05	3,92±0,14	4,07±0.05	5,91±0.16
21*	5,07±0.06	8,18±0.60	5,67±0,15	7,83±0,57	4,03±0.15	5,53±0.10

* 14 dias após fermentação

De acordo com os dados apresentados na Tabela 4 foi possível observar que não houve grandes variações nos valores Brix e Teor Alcoólico quando comparado a cerveja logo após o processo fermentativo e após o período de maturação.

Entretanto, para o tratamento em que se utilizou *S. boulardii*, foi possível observar um grande aumento no teor alcoólico.

Os resultados das contagens de células viáveis ao longo do período de produção estão descritos na Tabela 5. Observou-se que quando utilizadas separadamente, as leveduras se desenvolveram de forma satisfatória ao longo de todo processo de fermentação.

Tabela 5 - Contagens de Células Viáveis (UFC/ mL)

Tempo (dias)	<i>S. cerevisiae</i> (UFC/mL)	<i>S. boulardii</i> (UFC/mL)	<i>S. cerevisiae</i> + <i>S. boulardii</i> (UFC/mL)
0	$6,5 \times 10^6$	$7,3 \times 10^5$	$3,0 \times 10^6$
2	$3,1 \times 10^7$	$9,1 \times 10^7$	$4,7 \times 10^8$
4	$1,7 \times 10^7$	$8,7 \times 10^7$	$6,0 \times 10^7$ estimado
7	$5,6 \times 10^7$	$6,8 \times 10^7$	$5,0 \times 10^6$ estimado
21*	$3,0 \times 10^7$	$3,6 \times 10^9$	$1,7 \times 10^4$

* 14 dias após fermentação

As leveduras atuam em duas vias, sendo a primeira em aerobiose, onde oxidam as moléculas simples de açúcar e produzem gás carbônico, água e energia. Quando o oxigênio acaba, as leveduras utilizam a via fermentativa, onde, em anaerobiose, fermentam uma molécula simples de açúcar produzindo duas moléculas de etanol, duas de gás carbônico e energia (VENTURINI FILHO e CEREDA, 2008).

Entretanto, quando utilizadas em conjunto, as mesmas já apresentaram um declínio no número de células viáveis durante a fermentação. Os principais fatores que são relacionados à inibição do crescimento de leveduras são a presença de micro-organismos contaminantes ou condições de estresse.

Os principais micro-organismos contaminantes são representados por bactérias Gram-positivas, destacando-se as bactérias lácticas, que pertencem aos gêneros *Lactobacillus* e *Pediococcus*. Estas podem aumentar a viscosidade, causar turbidez, acidez e odores desagradáveis, devido à formação de produtos como o diacetil, e dicetona, que vão conferir odores e sabores desagradáveis. (VARNAN e SUTHERLAND, 1997). Entretanto, constatou-se que o mosto não possuía nenhuma

das características supracitadas, descartando-se assim a possibilidade de contaminação.

As principais fontes de estresse nas leveduras do mosto cervejeiro estão relacionadas a falta de nutrientes, elevação da acidez e escassez de nutrientes. Como resposta ao estresse, as leveduras gastam suas fontes de energia para se adaptar ao meio, prejudicando suas atividades fermentativas, refletindo diretamente na produção de etanol e gás carbônico (DORTA et al., 2005). Desta forma, o estresse causado pelo aumento repentino do teor alcoólico e a diminuição brusca na quantidade de nutrientes podem ter influenciado o desenvolvimento destas duas leveduras em conjunto.

Como a cerveja, quando submetida ao processo de maturação possui uma suspensão de leveduras e uma parte de material fermentescível, passa por uma fermentação secundária na etapa de maturação, com produção de CO₂. Esta etapa do processo é realizada sob temperaturas de 0 °C a 3 °C, e contribui para a clarificação da cerveja e melhoria do seu sabor.

Quando utilizou-se isoladamente as culturas de leveduras, houve uma maior contagem de células viáveis na cerveja. Além disso, a formulação em que se utilizou a *S. boulardii* apresentou resultados superiores a 10⁹ UFC/mL, podendo agregar ao produto características probióticas, uma vez que de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, para um produto ser considerado probiótico, deve apresentar contagens mínimas de 10⁸ a 10⁹ UFC por porção deste produto (BRASIL, 2008).

Para as análises sensoriais, constatou-se que todas as formulações apresentaram escores entre os termos hedônicos “gostei moderadamente” e “gostei muito”. A Tabela 6 apresenta os resultados obtidos após a avaliação sensorial.

Tabela 6 – Qualidade sensorial das amostras de cerveja

Formulação	Cor	Sabor	Odor	Aval. Global
<i>S. cerevisiae</i>	7,68 a	7,84 a	7,96 b	7,76 b
<i>S. boulardii</i>	7,68 a	7,84 a	8,02 b	8,00 a
<i>S. cerevisiae</i> + <i>S. boulardii</i>	7,78 a	7,66 b	8,18 a	7,86 b
CV= (%)	0,37	0,36	0,35	0,36

As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados mostram que não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) para o atributo cor. Já para os atributos de sabor, as amostras em que se utilizou as leveduras *S. cerevisiae* e *S. boulardii* isoladamente diferiram significativamente ($p < 0,05$) em relação à cerveja produzida utilizando as duas leveduras. Para o atributo odor, a amostra em que se utilizou as duas leveduras obtiveram resultados melhores. Este fato pode estar relacionado a uma maior presença de ácidos voláteis observados nesta amostra. A amostra onde se utilizou a *S. boulardii* apresentou o maior escore para avaliação global, diferindo-se significativamente das demais.

Relacionado à boa aceitação sensorial, foi possível observar em todas as formulações desenvolvidas apresentaram uma boa intenção de compra, onde a maioria dos provadores indicaram os termos “certamente compraria” ou “provavelmente compraria”, conforme Figura 13.

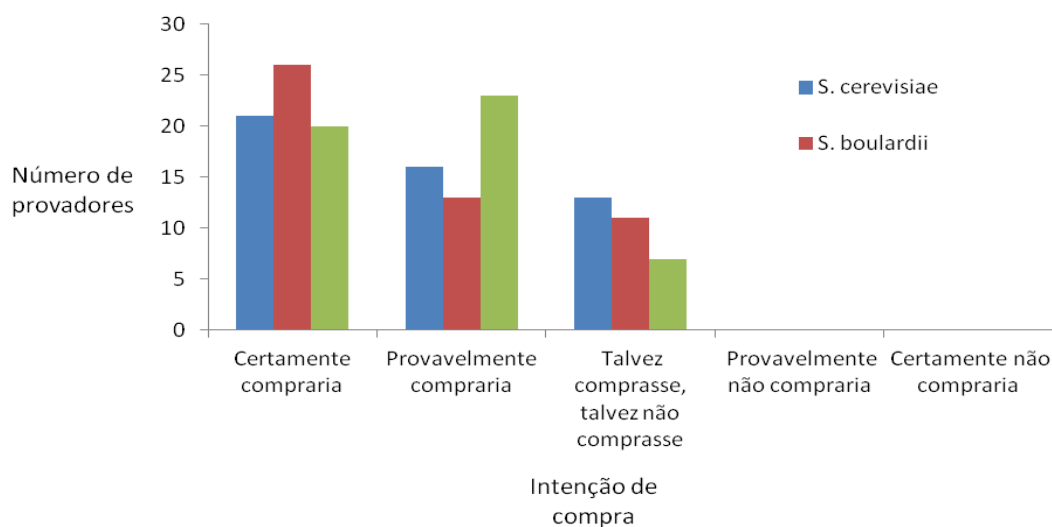


Figura 13 - Intenção de compra dos provadores

5 CONCLUSÃO

A utilização de *S. cerevisiae*, *S. boulardii*, assim como a utilização conjunta das leveduras em proporções iguais mostrou-se viável, uma vez que as mesmas apresentaram capacidade fermentativa e formação de compostos característicos da cerveja.

A *S. boulardii* atingiu o maior número de células viáveis na cerveja ao final do processo de produção, atingindo contagens superiores a 10^9 UFC/mL, podendo conferir ao produto um potencial probiótico, uma vez que a Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece que uma porção do produto deva conter no mínimo 10^8 a 10^9 UFC/mL para que o alimento seja considerado probiótico.

Todas as formulações elaboradas atingiram escores entre “gostei moderadamente” e “gostei muito” no teste de aceitação sensorial. Verificou-se também, que a cerveja elaborada a partir da *S. boulardii* diferiu-se significativamente das demais, obtendo melhor média para os atributos de “Avaliação Global” e “Sabor”. Estes resultados encontrados são confirmados pela intenção de compra, onde a maioria dos provadores assinalaram os termos “certamente compraria” ou “provavelmente compraria” este produto, demonstrando a importância do estudo da opinião dos consumidores e um possível potencial de mercado ao produto.

O uso de *S. boulardii* em fabricação de bebidas alcoólicas (principalmente cerveja) necessita ser aprimorado e estudado, uma vez que a elaboração da cerveja artesanal com utilização de tal levedura se mostrou viável, acrescentando ao meio acadêmico novas visões à biotecnologia e as indústrias uma nova fonte de produção, podendo ter apelos de produto com potencial funcional.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, F.B.; SILVA, P.H.A.; MINIM, V.P.R. Perfil sensorial e composição físico-química de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado brasileiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.2, p.121-128, 2003.

BADARÓ, A.C.L.; GUTTIERRES, A.P.M.; REZENDE, A.C.V.; STRINGHETA, P.C. Alunos probióticos: Aplicações como promotores da saúde humana – Parte 1. **Nutrir Gerais – Revista Digital de Nutrição**, Ipatinga, v.2, n.3, ago/dez. 2008.

BANFORTH, C.B. **The Art and Science of Brewing**, 2ª Edição, Oxford University Press, v.1. 2003.

BARBOSA, N. F. **Aspectos teóricos e práticos do processo de fermentação alcoólica**. 2012. 46 f. Trabalho de Graduação (Tecnologia em Biocombustíveis) – Centro de Tecnologia em Biocombustíveis, Faculdade de Tecnologia de Araçatuba, Araçatuba, 2012. Disponível em: <<http://www.fatecaracatuba.edu.br/suporte/upload/Biblioteca/BIO%2017711207143%20Autor%20Natalia%20Franca%20Barbosa.pdf>>. Acesso em: 25/11/2013.

BORTOLI, D.A.S.; SANTOS, F.; STOCCO, N. M.; ORELLI JR., A.; TOM, A.; NEME, F.F.; NASCIMENTO, D.D. Leveduras e produção de cervejas - Revisão. **Bioenergia em revista: diálogos**, Piracicaba, v.3, n.1, p. 45-58, jan./jun. 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos**, 2008. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm. Acesso em: 20 de novembro de 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento. Decreto Nº 6871, de 04 de junho de 2009. Diário Oficial da União, Brasília 05/06/2009. **Aprova a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização**. Disponível em <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=abreLegislacaoFederal&chave=50674&tipoLegis=A>. Acesso em 03/10/2013.

BRIZUELA, M. A.; SERRANO, P.; PEREZ, Y. Studies on probiotics properties of two *Lactobacillus* strains. **Braz. arch. biol. technol.**, v. 44, n. 1, p. 95-99, 2001.

CARVALHO, L. G. Dossiê Técnico. **Produção de cerveja**. Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, mar. 2007. Disponível em: <http://www.respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/NTc=> >. Acesso em: 18/11/2013.

COUTINHO, C.A.T. **A história da cerveja no Brasil**. Disponível em < <http://www.cervesia.com.br/historia-da-cerveja/411-a-historia-da-cerveja-no-brasil.html>>. Acesso em: 20/11/2013.

D'AVILA, R.F.; CRUZ, J.M ; LEITÃO, A.M. ; RODRIGUES, R.S. **pH e acidez total durante a produção de chope tipo Pilsen**. In: XVIII CIC, XI ENPOS, I Mostra Científica, 2009, Pelotas. 2009.

DORTA, C.O.P.; ABREU NETO, M.S.; NICOLAU JUNIOR, N.; NAGASHIMA, A.I. Synergism among lactic acid, sulfite, pH and ethanol in alcoholic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* (PE-2 and M-26). **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. v. 22, p. 177-182., fev/2006.

EDWARDSINGRAM, L.; GITSHAM, P.; BURTON, N.; WARHURST, G.; CLARKE, I.; HOYLE, D.; OLIVER, S.G.; STATEVA, L. Genotypic and physiological characterization of *Saccharomyces boulardii*, the probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied and Environmental Microbiology**. Washington, D.C., v. 73, n.8, p. 2458-2467, jan. 2007.

FERREIRA, H. F., VASCONCELOS, M. C. R. L., Fabricação de cervejas especiais na região de Belo Horizonte. **Perspectivas em Ciência da Informação**, Belo Horizonte, v.16, n.4, p. 171-191, out./dez. 2011.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. Microbiologia de alimentos. In: **Tecnologia em alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo: Nobel. 2008. Capítulo II. p. 87-90.

PRIEST, G.F e STEWART, G.G. Handbook of brewing. In: _____. (Org.). **Handbook of brewing**. Boca Raton: Ed. Taylor & Francis Group, 2005. p. 157.

JAY, J.M. **Microbiologia de alimentos**. Traduzido por TONDO, E.C. et al.. Porto Alegre. Editora: Arned, v.6, 2005.

KEUKELEIRE, D. Fundamentals of beer and hop chemistry. **Química Nova**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 108-112. 2000.

KUCK, L.S. **Cerveja: Sabor e Aroma**. 2008. 46f. Trabalho de Graduação (Seminários) – Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

LEPE, J. A. S. **Leveduras vínicas: funcionalidad y uso em bodega**. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, 1997. 269 pág.

LIMA, L. R.; MARCONDES, A. A. Álcool Carburante – uma estratégia brasileira. Curitiba: Editora UFPR, 2002.

LIMA, U.A.; BASSO, L.C.; AMORIM, H.V. In: LIMA, U.A. **Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos**. São Paulo: Editora Edgar Blucher LTDA, vol.3, 2001.

LOPES, T.R.; PINTO, M.A.O. Aplicação terapêutica de *Saccharomyces boulardii* em diarreias: uma revisão. **HU Revista**. Juiz de Fora, v.36, n.2, p.107-122, abr/jun. 2010.

MARTINS, F.S.; BARBOSA, F.H.F.; NICOLI, J.R. O probiótico *Saccharomyces boulardii*. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Universidade Estadual da Paraíba, vol.9, nº2, p. 171-181. 2009.

MARTINS, F.S.; NEVES, M.J.; ROSA, C.A.; NARDI, R.M.D.; PENNA, F.J.; NICOLI, J.R. Comparação de seis produtos probióticos contendo *Saccharomyces boulardii*. **Rev. Bras. Méd.**, v. 62, p. 151-155, 2005.

MINIM, V.P.R. Análise sensorial: estudos com consumidores. Viçosa: Ed.UFV, 2006. 225p.

MINIM, V.P.R.; ARAÚJO, F.B.; SILVA, P.H.A. Perfil sensorial e composição físico-química de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado brasileiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, n.2, p. 121-128, mai/aug. 2003.

MORADO, R. **Larousse da cerveja**.1.ed. São Paulo: Editora Larousse do Brasil, 2009.

MULLER, J.L. **Cultivo de *Saccharomyces boulardii* em biorreator air-lift e em frascos agitadores mecanicamente**. 2006. 92 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacéuticas) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2006.

NASCIMENTO, T. S. **Efeitos da utilização de leveduras selvagens selecionadas na fermentação industrial**. 2012. 41f. Monografia (Graduação em Tecnologia de B combustíveis) - Faculdade de Tecnologia de Araçatuba, Araçatuba, 2012.

OLIVEIRA, N. A. M. de. **Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja**. 2011. 42f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Microbiologia Ambiental e Industrial) - Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

OETTERER, M.; ALCARDE, A. R. Tecnologia da fabricação da cerveja. In: OETTERER, M.; REGITANO D'ARCE, M.A.; SPOTO, M.H.F.. (Org.). **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Barueri. Ed: Monele, v. 1, p. 51-98, 2006.

PACHECO, T.F. **Fermentação alcoólica com leveduras de características floculantes em reator tipo torre com escoamento ascendente**. 2010. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010.

POLLOCK, J.R.A. **Brewing Science**. London: Academic Press, v.2, 1981, 666p.

POMPERMAYER, L.B. **Mercado de cervejas artesanais: hábitos de consumo**. 2012. 14 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Estratégias de Marketing) - Universidade de Caxias do Sul, Bento Gonçalves, 2012.

REINOLD, M. R. Manual prático de cervejaria. São Paulo: Aden, 1997. p. 87-100.

RODRIGUES, J.P.M.; MARINHO, A.V.; SIQUEIRA, M.I.D. Avaliação da acidez volátil, teor alcoólico e de cobre em cachaças artesanais. **Estudos**. Goiânia, v. 36, n1/2, p. 75-93, jan/fev. 2009.

ROFFE, C. Biotherapy for antibioti-assoiated and other diarrhoeas. **Journal of Infection**, v.32, p.1-10, 1996.

SANTOS, A. M. **Fermentação Alcoólica com Levedura Imobilizada em Colmos de Bambu e em Fibra de Coco**. 2008. 69 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Unidade Acadêmica Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2008.

SANTOS, M. S; FERREIRA,C. L. L. F; GOMES, P. C.; SANTOS, J. L.; POZZA, P.; SANTOS, M.S.; RIBEIRO, F.M. **Cervejas e refrigerantes**. São Paulo: CETESB, 58 p. 2005.

SCHMITT, T.C. **Produção de cerveja tipo Pale Ale**. 2010. 156 f. Trabalho acadêmico (Planejamento e Projetos da Indústria II) - Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, 2010.

SICOBÉ. **Produção cervejas e refrigerantes – embalagem e região geográfica**. Disponível em: <http://www.receita.fazenda.gov.br/pessoajuridica/bebidas/SistContrProdSicobe.htm>. Acesso em: 02/10/2013.

SLEIMAN, M.; VENTURINI FILHO, W.G. Utilização de Extratos de malte na fabricação de cerveja: Avaliação físico-química e sensorial. **Brazilian Journal Of Food Technology**, v.7, n.2, p.145-153, jul./dez. 2004.

STEFENON, R. **A emergência de um novo padrão de consumo e suas implicações para a dinâmica competitiva da indústria cervejeira**. 2011. 77 f. Dissertação (Ciências Econômicas) – Setor de Ciências Sociais e Aplicadas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

STECKELBERG, C. **Caracterização de Leveduras de Processos de Fermentação Alcoólica Utilizando Atributos de Composição Celular e Características Cinéticas**. 2001. 31 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. Bebidas alcoólicas: I. Cerveza. In: **Bebidas: Tecnologia, Química y Microbiologia**. Zaragoza: Acribia, S.A., 1997. 487p.

VENTURINI FILHO, W. G. Cerveja. In: _____. **Tecnologia de Bebidas**. São Paulo: Ed. Edgard Blücher, 2010.

VENTURINI, W. G. F.; CEREDA, M. P. W. Cerveja. In: **Biotecnologia Industrial-Biotecnologia na produção de alimentos**. V. 4, São Paulo: Edgard Blucher, 2008. Cap. 4, p. 91-144.

VIANA, T.M.L. **Caracterização Bioenergética de *Saccharomyces cerevisiae* em fermentação vinária**. 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar) - Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009

ZENEBON, O.; PASCUET, N.S. **Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, v.4 360p., 2004.