

CARACTERIZAÇÃO DE LEVEDURAS SELVAGENS PARA A PRODUÇÃO DE CERVEJA

Data de submissão: 07/08/2023

Data de aceite: 02/10/2023

Osmar Roberto Dalla Santa

Universidade Estadual do Centro-Oeste, Departamento de Engenharia de Alimentos
Guarapuava, Paraná
<https://lattes.cnpq.br/2592077234468128>

João Manoel Folador Rodriguez

Universidade Estadual do Centro-Oeste, Departamento de Engenharia de Alimentos
Guarapuava, Paraná
<http://lattes.cnpq.br/1004101801407968>

Cristina Maria Zanette

Universidade Estadual do Centro-Oeste, Departamento de Engenharia de Alimentos
Guarapuava, Paraná
<http://lattes.cnpq.br/9218612065892041>

RESUMO: A cerveja, uma das mais antigas bebidas do mundo, desempenhou papéis de significância social, política e econômica ao longo da história. Inicialmente era obtida a partir de cereais por fermentação espontânea, já que não se tinha o conhecimento da existência dos microrganismos. Atualmente, a fermentação espontânea ainda é empregada para a

produção de cerveja, como as famosas cervejas produzidas na região de Bruxelas, as cervejas *Lambic*. Entretanto, para a produção em grande escala, o processo fermentativo é realizado por cepas de leveduras selecionadas e em condições controladas. Para ser usada como levedura cervejeira, a cepa deve apresentar características tecnológicas apropriadas, bem como, produzir metabólitos que contribuam com o aroma e sabor da cerveja. A utilização de novas linhagens de leveduras pode levar a obtenção de cervejas com características peculiares, assim, o *screening* de leveduras selvagens é uma importante alternativa, já que existe uma grande quantidade de microrganismos ainda desconhecidos. Neste escopo, este trabalho teve como objetivo avaliar características fisiológicas e/ou tecnológicas de leveduras selvagens visando a utilização na produção de cervejas. Entre as características avaliadas, destaca-se o metabolismo fermentativo, a tolerância a diferentes concentrações de etanol e a capacidade de floculação das células. Pelos testes realizados verificou-se a possibilidade de utilizar cepas de leveduras selvagens, pois, para as características avaliadas apresentam potencial tecnológico.

PALAVRAS-CHAVE: Leveduras selvagens; seleção; fermentação alcoólica; cerveja especial.

CHARACTERIZATION OF WILD YEASTS FOR BEER PRODUCTION

ABSTRACT: Beer, one of the oldest beverages in the world, has played roles of social, political, and economic significance throughout history. Initially, it was obtained from cereals through spontaneous fermentation, as the existence of microorganisms was not yet known. Currently, spontaneous fermentation is still employed for beer production, such as the famous beers produced in the Brussels region, the *Lambic* beers. However, for large-scale production, the fermentation process is carried out by selected yeast strains under controlled conditions. To be used as brewing yeast, the strain must exhibit appropriate technological characteristics, as well as produce metabolites that contribute to the beer's aroma and flavor. The use of new yeast strains can lead to obtaining beers with unique characteristics; thus, the screening of wild yeasts is an important alternative, given the large number of still unknown microorganisms. In this context, the aim of this study was to evaluate physiological and/or technological characteristics of wild yeasts for potential use in beer production. Among the evaluated characteristics, fermentative metabolism, tolerance to different ethanol concentrations, and cell flocculation capacity stand out. The tests conducted demonstrated the feasibility of using wild yeast strains, as they exhibited technological potential for the evaluated characteristics.

KEYWORDS: Wild yeast; screening; alcoholic fermentation; craft beer.

1 | INTRODUÇÃO

O mercado cervejeiro brasileiro e mundial tem mudando significativamente nos últimos anos, isto ocorre devido a expansão das microcervejarias que estão experimentando um grande crescimento. O sucesso deste segmento está relacionado com a produção e oferta de cervejas com características sensoriais variadas e diferentes apelos comerciais, bem como, a inserção regional destas empresas. Para isso, além de considerar questões culturais, também são exploradas matérias primas típicas produzidas localmente, visando produzir cervejas com identidade local. Isto permite obter produtos peculiares e contribui com o desenvolvimento regional e com a distribuição de renda.

Para atingir um novo patamar são necessárias ações de inovação para dar suporte a estas novas tendências do setor, com o objetivo de produzir produtos com identidade, ou seja, com características sensoriais peculiares, diferenciando-se dos produtos ofertados pelas grandes marcas que dominam o mercado. Na produção de cerveja são inúmeras as alternativas que podem ser exploradas para atingir este objetivo, desde os insumos utilizados nas formulações, dos fatores intrínsecos e extrínsecos do processo de produção do mosto e da fermentação, bem como, as diferentes linhagens de estipes de leveduras utilizadas no processo fermentativo.

Neste escopo, pesquisas de isolamento, caracterização e seleção de cepas de leveduras da microbiota de diferentes habitats são de interesse deste setor. Novas estirpes podem ser fundamentais para a utilização na produção de estilos de cervejas com

características específicas, dando identidade ao produto.

1.1 Leveduras na produção de cerveja

No processo de fabricação de cervejas uma das etapas fundamentais é a fermentação, que consiste na transformação dos açúcares em etanol e CO₂, junto a produção de outros metabólitos secundários em menor quantidade, dentre eles o acetato de etilo, os ácidos cítrico e succínico e o álcool isoamílico. A concentração destes compostos é determinante para que as características específicas dos produtos fermentados não se tornem desagradáveis sensorialmente (PEREIRA et al., 2015). Atualmente, para a grande maioria dos estilos de cerveja, a fermentação do mosto é realizada por microrganismos selecionados, os quais apresentam um perfil metabólico específico, característico para cada estilo que se deseja produzir (VALENTE JUNIOR; ALVES, 2016).

As leveduras são classificadas como fungos unicelulares, não filamentosos, geralmente apresentando formatos esféricos ou ovais. As leveduras possuem crescimento por brotamento, onde a célula parental forma um broto em sua superfície e, à medida que o broto se desenvolve, o núcleo da célula parental se divide e um dos núcleos desloca-se para o broto. Após a síntese do material da parede celular entre o broto e a célula parental, ocorre o desmembramento do broto (AQUARONE et al., 2001; TORTORA, FUNKE, CASE, 2012).

Atualmente, as leveduras cervejeiras são classificadas de acordo com as suas características tecnológicas e fisiológicas, considerando sempre o perfil sensorial dos compostos que a levedura gera durante o processo fermentativo. Assim, para cada estilo de cerveja existem estirpes selecionadas que contribuem com as características finais do produto, dando identidade ao estilo (GARCIA, 2017).

As cervejas são classificadas, ou categorizadas, em *Lager*, *Ale* e *Híbridas* sendo que em primeira instância esta classificação está baseada no tipo de levedura e de fermentação que ocorre. As leveduras *Ale* são poliplóides, ou seja, seus cromossomos são repetidos várias vezes. As leveduras *Lager* são alotetraplóides, ou seja, tem um conjunto de cromossomos de *S. cerevisiae*, um conjunto de cromossomos provavelmente de *Saccharomyces eubayuns* e um conjunto de cromossomos híbridos das duas leveduras (SENAI, 2014; SAMPAIO, 2018).

Para produzir cervejas *Lager* utiliza-se leveduras de baixa fermentação, são estirpes de *Saccharomyces pastorianus*, também conhecida como *S. carlsbergensis*. Durante a fermentação as células permanecem na metade inferior da dorna, denominadas de leveduras de fundo, e a fermentação ocorre em temperaturas mais baixas, geralmente entre 6 e 12 °C (TORTORA, FUNKE, CASE, 2012).

As estirpes de leveduras utilizadas para produzir cerveja *Lager* apresentam um perfil metabólico neutro, com baixa influência nas características sensoriais das cervejas. Nesta categoria os sabores e aromas do malte é que prevalecem, como nos estilos *Pilsen*, *Helles*

e *Vienna* (BJCP, 2015).

As cervejas *Ale* utilizam estirpes de *Saccharomyces cerevisiae*, que são leveduras de alta fermentação, ou fermentação de topo, pois durante o processo fermentativo elas permanecem na metade superior da dorna e a fermentação ocorre em temperaturas entre 15 e 23° C. Em geral, as estirpes de leveduras *Ale* possuem um metabolismo que gera compostos como ésteres e fenóis, que contribuem com o aroma e o sabor frutado ou condimentado, respectivamente, que podem ser percebidos nas *Weissbeir*, *Witbier* e as cervejas de abadia (*dubbel*, *tripel*, *quadrupele*). Já outros fermentos *Ale* possuem um caráter mais neutro, como os utilizados para a produção de *India Pale Ale (IPA)*, *American Pale Ale (APA)* e *Stout*, onde prevalece o aroma e sabor dos maltes ou lúpulos utilizados em cada estilo.

Uma terceira categoria é aceita pelos cervejeiros, são as cervejas produzidas por fermentação espontânea, onde um conjunto de microrganismos presentes no ambiente e insumos são os responsáveis pelo processo fermentativo. Nesta categoria também estão as cervejas fermentadas com bactérias e estirpes de leveduras, que não a *Saccharomyces*, adicionadas diretamente ao mosto resfriado. Neste caso, o termo mais amplamente utilizado é *wild*, ou “fermentação selvagem”, diferindo assim da fermentação espontânea que é utilizada para a produção de cerveja *Lambic*, ou tipo *Lambic*.

Qualquer levedura diferente das culturas utilizadas industrialmente na elaboração de cerveja são consideradas selvagens ou indígenas. Leveduras selvagens podem ter origem nos mais variados habitats, além de várias espécies de *Saccharomyces*, são encontradas também espécies dos gêneros *Brettanomyces*, *Candida*, *Debaromyces*, *Hansenula*, *Kloeckera*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Torulaspota* e *Zygosaccharomyces*. Quando presentes como contaminantes no processo de produção, as leveduras selvagens podem causar problemas que variam de acordo com cada contaminante, como turbidez, odores e sabores indesejados, atenuação incompleta e floculação. Em torno de 80% das leveduras selvagens pertencem ao gênero *Saccharomyces* (AQUARONE et al., 2001; DRAGONE et al., 2010).

Entretanto, dentre as leveduras selvagens podem conter espécies ou estirpes com características tecnológicas e perfil metabólico adequado para a produção de cerveja. Sendo assim, explorar essa diversidade é uma alternativa para diminuir a dependência dos fermentos importados, bem como, selecionar estirpes que possibilitem a obtenção de um produto com identidade local.

Na seleção de leveduras, três características tecnológicas são de extrema valia para a produção de cerveja. Primeiramente, a levedura precisa produzir cerveja com sabor e odor agradáveis, sendo essa questão motivada por outros fatores além da atividade da enzima, podendo ser pela matéria prima e algumas técnicas de processamento. O segundo fator é a necessidade do crescimento adequado da levedura, sendo esperado o aumento da sua massa de 3 a 5 vezes no período de fermentação. O terceiro fator é a capacidade

de floculação da levedura. Essa floculação estabelece o tipo de fermentação, a forma de separação do fermento, o tipo de cerveja obtida, entre outras características (AQUARONE et al., 2001).

2 | MATERIAL E MÉTODOS

As cepas de leveduras utilizadas neste estudo pertencem ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Estadual do Centro Oeste. Para os testes as cepas foram reativadas transferindo parte da biomassa para tubos com 10 mL de caldo YPG (extrato de levedura: 1%; peptona bacteriológica: 1%; glicose: 2%). Os tubos inoculados foram incubados a 25 °C por 24 h para o desenvolvimento da biomassa das estirpes. Os testes bioquímicos e/ou as características tecnológicas foram executados com culturas *overnight* (PATARO et al., 1998).

2.1 Assimilação de nitrogênio pelas cepas de leveduras

Neste teste foi verificada a capacidade das cepas de leveduras de utilizarem o nitrato de potássio (KNO₃) e nitrito de sódio (NaNO₂) como fontes de nitrogênio para o seu crescimento. Para este teste utilizou-se o meio Yeast Carbon Base (glicose: 2 g; fosfato de potássio monobásico: 0,1 g; sulfato de magnésio: 0,05 g; ágar bacteriológico: 2 g e; água destilada: 100 mL) adicionado de 2% de uma das fontes de nitrogênio. Após inoculação das diferentes cepas de leveduras, as placas foram incubadas a 20 °C por 72 h, sendo que a capacidade de utilização das fontes de nitrogênio testadas foi verificada pelo crescimento de colônias (SOUZA, 2013).

2.2 Produção de sulfeto de hidrogênio (H₂S) pelas cepas de leveduras

Para verificar a produção de H₂S pelas cepas de leveduras foi utilizado o meio LA (glicose: 4%; extrato de levedura: 0,5%; peptona bacteriológica: 0,3%; sulfato de amônio: 0,02%; acetato de chumbo neutro: 0,1%; ágar bacteriológico: 2%). As diferentes cepas foram inoculadas em placas pelo método de estrias por esgotamento e incubadas a 20 °C por 72 h. A produção de H₂S foi verificada pelo crescimento de colônias com tons de preto (ONO et al., 1991).

2.3 Capacidade fermentativa das cepas de leveduras

A capacidade fermentativa foi verificada inoculando cada cepa em tubos contendo 10 mL de caldo YPG estéril com tubos de Durhan invertido em seu interior. O material foi incubado a 20 °C por 72 h, após verificou-se a presença de gás no interior do tubo de Durhan e de biomassa no fundo do tubo de ensaio (VAUGGHAN-MARTINI, MARTINI, 1993).

2.4 Teste de floculação da biomassa das cepas de leveduras

Para verificar a capacidade de floculação da biomassa, as cepas das leveduras foram inoculadas em tubos contendo 10 mL de caldo YPG. O material foi incubado a 20 °C por 72 h, após este período, os tubos com as culturas foram agitados em agitador vórtex e deixados em repouso para verificar a sedimentação e a formação de flocos da biomassa microbiana (SUZZI et al., 1984).

2.5 Tolerância das cepas de leveduras ao etanol

Para este teste, as cepas foram inoculadas em uma série de três tubos contendo 10 mL de caldo YPG contendo diferentes concentrações de etanol: 5, 8 e 10%. Após incubação a 20 °C por 72 h a tolerância foi verificada pela produção ou não de biomassa das cepas testadas nas diferentes concentrações de etanol (GUIMARÃES, 2005).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Existe uma grande diversidade de leveduras na natureza, entretanto, para a utilização como fermento na produção de cerveja as cepas devem apresentar características tecnológicas específicas (ARAÚJO, 2013). As leveduras são fundamentais no processo de produção da cerveja, pois, a atividade metabólica destes organismos leva a produção de compostos químicos, que podem contribuir com aroma e sabor desejáveis, ou alterar negativamente as características sensoriais, levando a rejeição do produto pelo consumidor.

Além disso, as leveduras devem apresentar algumas características que não estão ligadas a aceitação sensorial e sim a questões tecnológicas. Dentre estas características, destaca-se a capacidade de floculação, a capacidade fermentativa e a resistência ao etanol (SMART, 2003; LOPES, 2016). As características bioquímicas e/ou tecnológicas das cepas de leveduras estudadas estão apresentadas na tabela 1.

Cepas	Absorção de N		Produção de H ₂ S	Produção de CO ₂	Floculação	Tolerância ao etanol		
	KNO ₃	NaNO ₂				5%	8%	10%
LPF1	+	-	-	+	+	+	-	-
LPF2	-	-	-	+	+	+	-	-
LPF3	+	-	-	+	+	-	-	-
LPF4	+	-	-	+	+	+	-	-
LPF5	-	-	-	-	+	-	-	-
LPF6	-	-	-	-	-	-	-	-
LPF7	-	-	-	+	+	-	-	-
LPF8	+	-	-	+	+	+	-	-
LPF9	+	-	-	+	+	-	-	-
LPF10	+	-	-	-	-	-	-	-
LPF11	+	-	+	-	-	-	-	-

LPF12	-	-	-	+	+	+	+	+
LPF13	+	-	-	-	-	+	-	-
LPF14	-	-	-	+	+	-	-	-
LPF15	-	-	+	-	+	+	-	-
LPF16	-	-	-	+	+	+	-	-
LPF17	-	-	-	+	+	+	+	-
LPF18	+	-	-	+	-	-	-	-
LPF19	+	-	-	-	-	+	-	-
LPF20	+	-	-	-	-	+	-	-
LPF21	+	-	-	+	-	+	+	+
LPF22	-	-	-	+	-	+	+	+
LPF3	-	-	-	+	-	+	+	+
LPF4	-	-	-	+	-	+	+	+
LPF25	-	-	-	+	+	+	+	+
LPF26	+	-	-	+	+	+	+	+
LPF27	-	-	-	+	+	+	+	-
LPF28	-	-	-	+	+	+	+	+
LPF29	+	-	-	-	+	+	+	+
LPF30	+	-	-	-	+	+	+	-
LPF31	-	-	-	+	-	+	+	+
LPF32	+	-	-	-	+	+	+	+
LPF33	-	-	-	-	-	+	+	+
LPF34	-	-	-	+	-	+	+	+
LPF35	+	-	-	+	+	+	+	+
LPF36	+	-	-	-	+	+	+	+
LPF37	-	-	-	-	+	-	-	-
LPF38	+	-	-	+	+	+	+	+
LPF39	-	-	-	+	-	+	+	+
LPF40	-	-	-	+	-	+	+	+
LPF41	+	-	-	+	+	+	+	+
LPF42	-	-	-	+	-	+	+	+
LPF43	+	-	-	+	+	+	+	+
LPF44	+	-	-	+	+	+	+	+
LPF45	+	-	-	+	+	+	+	+

Tabela 1 – Características bioquímicas e/ou tecnológicas de cepas de leveduras selvagens.

3.1 Assimilação de nitrogênio pelas cepas das leveduras

Em estudos de isolamento e seleção de microrganismos é fundamental a realização de testes bioquímicos iniciais, para verificar se a cepa isolada apresenta características compatíveis com o gênero ou espécie de interesse.

Quando o objetivo é isolar cepas de leveduras, *Saccharomyces cerevisiae*, na seleção inicial verifica-se a capacidade de assimilação de fontes de nitrogênio. As cepas da espécie *S. cerevisiae* não conseguem se desenvolver quando as únicas fontes de nitrogênio são o nitrato de potássio e o nitrito de sódio. Entre as cepas avaliadas neste estudo, 23 crescem quando o nitrato de potássio é a única fonte de nitrogênio no meio de cultivo, sendo assim, outros testes devem ser realizados para confirmar a identidade. Entretanto, todas as cepas avaliadas não utilizaram o nitrito de sódio com fonte de nitrogênio, segundo a chave taxonômica das características da espécie *S. cerevisiae*, esta é uma das características dessa espécie (VAUGHAN-MARTINI; MARTINI, 1993; SANNI; LONNER, 1993).

3.2 Produção de sulfeto de hidrogênio pelas cepas de leveduras

No processo fermentativo, a geração de compostos que contenham enxofre em sua composição são indesejáveis, especialmente os voláteis, pois agregam sabores e odores desagradáveis a bebida comprometendo a qualidade sensorial. O sulfeto de hidrogênio é um composto de odor repugnante, não devendo estar presente nos alimentos e bebidas. (RIBEIRO; HORII, 1999; MESTRES et al., 2000).

Das cepas avaliadas neste estudo, duas produziram H_2S , desta forma, esta característica deve ser considerada nas etapas seguintes do processo de seleção. Entretanto, o sulfeto de hidrogênio produzido pelas leveduras durante a produção de cerveja, devido a sua volatilidade é removido na etapa da fermentação por arraste pelo CO_2 produzido. Desta forma, esta característica não é excludente para o processo de produção de cerveja (RIBEIRO; HORII, 1999).

3.3 Capacidade Fermentativa das cepas de leveduras

Em estudos que visam a seleção de leveduras para a produção de cervejas é fundamental estabelecer algumas propriedades tecnológicas. Neste sentido, entre as características deve-se considerar a capacidade fermentativa, a tolerância ao etanol, o crescimento em altas concentrações de açúcares e floculação da biomassa (ESTEVEZARZOZO et al., 2000; IRANZO et al., 1998).

Na seleção de leveduras para a produção de bebidas fermentadas ou fermento-destiladas, a capacidade fermentativa, ou seja, a eficiência na conversão de açúcares em etanol e CO_2 é uma característica tecnológica fundamental. As estirpes devem ser eficientes em utilizar açúcares simples, como glicose, frutose e sacarose, mas também é desejável que consumam também carboidratos mais complexos, como trissacarídeos e dextrinas (CAPELLO et al., 2004).

Assim, as cepas isoladas são submetidas a testes de crescimento em diferentes fontes de carbono, pois, além de verificar a eficiência fermentativa, a assimilação e fermentação de compostos de carbono são critérios utilizados na identificação e caracterização bioquímica dos microrganismos. (MADIGAN, MARTINKO, PARKER, 1997)

Para avaliar a capacidade fermentativa, as cepas de leveduras foram cultivadas em meio contendo glicose, sendo que este parâmetro foi verificado pela geração de CO₂. Os resultados da capacidade fermentativa da glicose pelas cepas de leveduras estão apresentados na Tabela 1. Verificou-se duas situações distintas, a metabolização da glicose acompanhada ou não da produção de gás. Para o uso como fermento para a produção de cerveja é fundamental a fermentação de açúcares com consequente produção de etanol e CO₂. Das cepas avaliadas neste estudo, 68,9% produziram gás comprovando ação fermentativa, aquelas que metabolizaram a glicose sem produção de gás são excluídas da seleção para a produção de cerveja.

3.4 Floculação da biomassa das cepas de leveduras

Uma característica tecnológica que uma cepa de levedura deve conter para a sua utilização na produção de cerveja é a floculação da sua biomassa, especialmente importante ao final da fase fermentativa, pois diminui o tempo de decantação deixando o líquido mais límpido (ALVAREZ, et al., 2014; GUIMARAES, 2005). A floculação consiste na agregação das células em grumos, que podem ser removidos do meio (FINN, STEWART, 2002). Cepas com boa capacidade de floculação reduzem os custos de produção, pois facilita o processo de separação das leveduras do mosto, mesmo quando se utiliza a filtração ou a centrifugação do mosto fermentado (JIN, SPEERS, 1998; VERSTREPEN et al., 2001; BRITES, 2003)

Na tabela 1 estão apresentados os dados relativos a floculação, onde verifica-se que 37,8% das cepas avaliadas não apresentam a capacidade de agrupamento das células. Entretanto, se estas cepas apresentarem as demais características para a produção de cerveja, outros testes são necessários, utilizando parâmetros reais de um processo de produção de cerveja, pois, além do genótipo, fatores químicos como o pH e presença de açúcares, e fatores físicos como a temperatura e a agitação interferem na floculação das células (JIRANEK, LANGRIDGE, HENSCHKE, 1995; BRITES, 2003). Guimarães (2005), em seu estudo também constatou a floculação das células das cepas de leveduras avaliadas.

3.5 Tolerância ao etanol pelas cepas de leveduras

Na tabela 1 estão os resultados relativo a tolerância ao etanol pelas cepas de leveduras. No processo de produção de cerveja ocorre o consumo dos açúcares fermentescíveis com consequente produção de etanol, além de vários outros metabólitos. Desta forma, ocorre um acúmulo de etanol no meio que pode exercer ação antimicrobiana, dependendo da sua concentração. Atualmente, devido à grande diversificação de estilos de cerveja o teor alcoólico é muito variado, onde alguns estilos chegam a possuir teor alcoólico em torno de 15% (BJCP, 2015). Quantidades elevadas de etanol são tóxicas para as células das leveduras, assim, para que uma estirpe de levedura possa ser utilizada com

fermento na produção de cerveja ela deve ser resistente pelo menos ao teor alcoólico do estilo produzido.

Das cepas avaliadas, 22,2% não se desenvolveram na presença de 5% de etanol no meio de cultivo. A grande maioria das cervejas comerciais possuem teor alcoólico em torno de 5%. A medida que a concentração de etanol aumentou no meio de cultivo, um maior número de cepas resistiram, sendo que 42,2% e 48,9% não se desenvolveram na presença de 8 e 10% de etanol, respectivamente. Resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho para 10% de etanol também foram relatados por Guimarães (2005) avaliando leveduras vínicas.

O estresse etanólico é uma das principais condições a ser avaliada, durante a fermentação alcoólica na fase inicial ocorre aumento da concentração de etanol e da acidez no mosto. Assim, a tolerância ao etanol, a pressão osmótica e a acidez elevada são características responsáveis pela permanência de algumas estirpes e o desaparecimento de outras ao longo da fermentação (ARAÚJO et al., 2018; CHI; AMEBORG, 2000; PINA et al., 2004). Entretanto, as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* podem se adaptar as concentrações de etanol no decorrer do processo.

4 | CONCLUSÃO

A exploração de novas estirpes de leveduras, e/ou diferentes condições do processo fermentativo, podem gerar informações importantes para o setor das microcervejarias. Este setor sempre está na busca de inovações, com o objetivo de aumentar a diversificação da oferta de produtos com características peculiares, para atender um nicho que consumidores que cada vez mais procura por novidades.

Pelos resultados obtidos neste estudo verificou-se que, dentre as características avaliadas, cepas de leveduras selvagens apresentaram perfil tecnológico adequado para a produção de cerveja. Estudos posteriores são necessários para verificar o perfil dos compostos metabólicos que são produzidos e sua influência nas características sensoriais do produto final.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ, F.; CORREA, L. F. M.; ARAÚJO, T. M.; MOTA, B. E. F.; CONCEIÇÃO, L. E. F. R.; CASTRO, I. M.; BRANDÃO, R. L. Variable flocculation profiles of yeast strains isolated from cachaça distilleries. **International Journal of Food Microbiology**, v. 190, p. 97-104, 2014.

AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A. **Biotecnologia industrial: biotecnologia na produção de alimentos**, v. 4. São Paulo: Edgard Blucher, 2001.

ARAÚJO, T. M. **Caracterização bioquímico-molecular de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* isoladas de dornas de fermentação de cachaça para produção de cervejas.** Ouro Preto: 2013, 112 p. Dissertação (Mestrado – Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Ouro Preto.

ARAÚJO, T. M.; SOUZA, M. T.; DINIZ, R. H. S.; YAMAKAWA, C. K.; SOARES, L. B.; LENCZAK, J. L.; OLIVEIRA, J. V. C.; GOLDMAN, G. H.; BARBOSA, E. A.; CAMPOS, A. C. S.; CASTRO, I. M.; BRANDÃO, R. L. Cachaça yeast strains: alternative starters to produce beer and bioethanol. **Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of general and Molecular Microbiology**, v. 1, p. 1-18, 2018.

BJCP – BEER JUDGE CERTIFICATION PROGRAM, **2015 Style Guidelines** – BJCP. Disponível em: www.bjcp.org. Acesso em 07/08/2023.

BRITES, A. S. M. **Seleção de linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* potencializadas pelo fator Killer, H2S- e o carater floculante.** Piracicaba, 2003. 72 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

CAPELLO, M.S.; BLEVE, G.; GRIECO, F.; DELLAGLIO, F.; ZACHEO, G. Characterization of *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from must of grape grown in experimental vineyard. **Journal of Applied Microbiology**, 97, p. 1274-1280, 2004.

CHI, Z.; AMEBORG, N. *Saccharomyces cerevisiae* strains with different degrees of ethanol tolerance exhibit different adaptive responses to produced ethanol. **Journal of industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 24, p. 75-78, 2000.

DRAGONE, G.; ALMEIDA, SILVA, J. B. **Cerveja.** In: VENTURINI FILHO, W. G. Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia, v. 1, São Paulo: Blucher, 2010, p. 28.

ESTEVE-ZAROSO, B. S.; GOSTINCAR, A.; BOBRT, R.; URUBURU, F.; QUEROL, A. Selection and molecular characterization of wine yeasts isolated from the 'El Penedès' area (Spain). **Food Microbiology**, v. 17, n. 5, p. 553-562, 2000.

FINN, D. A.; STEWART, G. G. Fermentation characteristics of dried brewers yeast; effect of drying on flocculation and fermentation. **J. Am. Soc. Brew. Chem.** v. 60, n. 3, p. 135-139, 2002.

GARCIA, M. M. E. **Produção de cerveja: Utilização de estirpes não-convencionais em co-fermentação com *Saccharomyces* para potenciação do perfil sensorial de diversos tipos de cerveja.** Lisboa: 2017, 119 p. Dissertação (mestrado) – Universidade de Lisboa.

GUIMARÃES, T. M. **Isolamento, identificação e seleção de cepas de levedura *Sacchaomyces cerevisiae* para elaboração de vinho.** Curitiba: 2005. 117 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, UFPR.

IRANZO, J. F.; BRIONEZ-PÉREZ, A. I.; IZQUIERDO-CANÃS, P. M. Study of the oenological characteristics and enzymatics activities of wine yeasts. **Food Microbiology**, v. 15, p. 399-406, 1998.

JIN, Y. L.; SPEERS, R. A. Flocculation of *Saccharomyces cerevisiae*. **Food Research International**, v. 31, p. 421-440, 1998.

- JIRANEK, V.; LANGRIDGE, P.; HENSCHKE, P. A. Amino Acid and Ammonium Utilization by *Saccharomyces cerevisiae* Wine Yeasts From a Chemically Defined Medium. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 46, p. 75-83, 1995.
- LOPES, T. **Isolamento e identificação de leveduras selvagens de *citrus reticulata* com potencial para a fermentação de cervejas**. Porto Alegre, 2016, 60 p. Monografia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Biology of microorganisms**. 8 ed. New Jersey: Prentice Hall, 1997.
- MESTRES, M.; BUSTO, O.; GUASCH, J. Analysis of organic sulfur compounds in wine aroma. **Journal of Chromatography**, v. 881, p. 569-581, 2000.
- ONO, B. I.; ISHI, N.; FUJINO, S.; AOYAMA, I. Role of hydrosulfide ions (HS-) in methylmercury resistance in *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, n. 11, p. 3183-3186, 1991.
- PATARO, C.; SANTOS, A.; CORREA, S. R.; MORAIS, P. B.; LINARDI, V. R.; ROSA, C. A. Physiological characterization of yeasts isolated from artisanal fermentation in aguardente distillery. **Revista de Microbiologia**, v. 29, p. 104-108, 1998.
- PEREIRA, A. F., SILVA, P. H. A., PINHEIRO, P. F., BRAGA, L. M., PINHEIRO, C. A. Adição de fontes de nitrogênio e duas linhagens de levedura na fermentação alcoólica para produção de cachaça. **Journal of Chemical Engineering and Chemistry**, v. 1, p. 45, 2015.
- PINA, C.; SANTOS, C.; COUTO, J. A.; HOGG, T. Ethanol tolerance of five non *Saccharomyces* wine yeasts in comparison with a strain of *Saccharomyces cerevisiae* – influence of different culture conditions. **Food Microbiology**, v. 21, p. 439-447, 2004.
- RIBEIRO, C. A. F., HORII, J. Potencialidades de linhagens de levedura *Saccharomyces cerevisiae* para a fermentação do caldo de cana. *Sci. agric.* [online], v.56, n.2, p. 255-263, 1999.
- SAMPAIO, J. P. Microbe Profile: *Saccharomyces eubayanus*, the missing link to lager beer yeasts. **Microbiology**, v. 164, p. 1069-1071, 2018.
- SANNI, A. I.; LONNER, C. Identification of yeasts isolated from Nigerian traditional alcoholic beverages. **Food Microbiology**, v. 10, p. 517-523, 1993.
- SENAI. **Tecnologia Cervejeira**. v. 1 Rio de Janeiro: Sistema FIRJAN, 2014. p. 284.
- SMART, K. **Brewing yeast fermentation performance**, 2 ed. Oxford, UK. Oxford Brookes University, 2003, 321 p.
- SOUZA, J. A. M. O. **Variabilidade genética de *Cryptococcus* ambientais na cidade de Salvador-BA**. Salvador: 2013. 93 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, UFBA.
- SUZZI, G. P.; ROMANO, P.; ZAMBONELLI, C. Flocculation of wine yeasts: frequency, differences and stability of character. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 30, p. 36-39, 1984.

SUZZI, G. P.; ROMANO, P.; ZAMBONELLI, C. Flocculation of wine yeasts: frequency, differences and stability of character. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 30, p. 36-39, 1984.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiology**. 6 ed. Califórnia: Art Méd, 2002.

VALENTE JUNIOR, A. S.; ALVES, F. C. D. **Bebidas alcoólicas: Cerveja**. Caderno Setorial: Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste – ETENE, ano 1, n. 2, 2016.

VAUGHAN-MARTINI, A.; MARTINI, A. A taxonomic key the genus *Saccharomyces*. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 16, p. 113-119, 1993.

VERSTREPEN, K. J.; DERDELINCKX, G.; DELVAUX, F. R.; WINDERICKX, J. Late fermentation expression of FLO1 in *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 59(2), P. 69-76, 2001.