Ciência & Tecnologia
Fatec-JB

ISSN: 2178-9436

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E FISIOLÓGICA DE LEVEDURAS COM POTENCIAL PARA PRODUÇÃO DE CERVEJA

ISOLATION AND MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF YEAST WITH POTENTIAL FOR BEER PRODUCTION

Juliana Pelegrini Roviero[I]
Leandra da Silva Barreto[II]
Cristhyane Millena de Freita[III]

Área: Biocombustíveis e Química

RESUMO

Os componentes principais na produção de cerveja são água, malte, levedura e lúpulo, que, conforme a combinação de variedades ou técnicas de processamento, podem resultar em uma grande diversidade de sabores, tonalidades e fragrâncias. A levedura utilizada na produção de cerveja é a *Sacharomyces cerevisae*, no entanto, esta representa um dos maiores custos no processo. Neste contexto, esta pesquisa teve como objetivo coletar amostras do ambiente de fermentação da produção de cachaça, sabendo-se que há microrganismos não identificados, isolá-los e realizar testes de assimilação de açúcares, buscando-se cepas que podem apresentar potencial para a fermentação na produção de cerveja. Para o estudo foi coletada uma amostra do levedo do alambique Del Rey no município de Frutal - MG, e para efeito de comparação, utilizou-se também a levedura de cerveja comercial Safale-0505. Foi utilizado o meio de cultura Plate Count Ágar (PCA) para o isolamento e contagem dos microrganismos, e posteriormente feito o teste de assimilação de glicose e maltose, em temperatura de 20 ºC. Identificou-se o crescimento de três tipos diferentes de colônias de microrganismos nas amostras estudadas, caracterizadas como MCA1, MCA2 e MCA3 (isoladas a partir do levedo de alambique), e MCE1, MCE2 e MCE3 (isoladas a partir da amostra de levedura comercial cervejeira), que apresentaram características morfológicas diferentes. Com relação ao teste de assimilação de açúcares, a colônia MCE3 da cerveja apresentou resultado positivo na assimilação de maltose, da mesma maneira as colônias MCA2 e MCA3, apresentaram resultados significativos para o teste de assimilação de glicose e maltose, indicando que estas apresentam potencial para o uso na fermentação para produção de cerveja.

Palavras-chave: artesanal; fermentação; glicose; maltose; *sacharomyces cerevisae*.

ABSTRACT

The primary constituents of beer production include water, malt, yeast, and hops, which, depending on the combination of varieties or processing techniques, yield a broad spectrum of flavors, tones, and fragrances. *Saccharomyces cerevisiae* is the yeast commonly employed in

[I] Doutora em Microbiologia Agropecuária, Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG), e-mail: juliana.roviero@uemg.br
[II] Graduanda em Engenharia Agronômica, Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG), e-mail: leandrabarreto60@gmail.com
[III] Doutora em Microbiologia Agropecuária, Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG), e-mail: cristhyane.freita@uemg.br

Ciência & Tecnologia
Fatec-JB

ISSN: 2178-9436

beer production; however, it represents one of the highest costs in the process. Within this context, this research aims to collect samples from the fermentation environment of cachaça production, recognizing the presence of unidentified microorganisms, isolating them, and conducting sugar assimilation tests to identify strains with potential for beer fermentation. For this study, yeast samples were collected from the Del Rey distillery in the municipality of Frutal, MG. Additionally, for comparative analysis, commercial brewer's yeast Safale-0505 was utilized. Plate Count Agar (PCA) culture medium was used for the isolation and counting of microorganisms. Subsequently, glucose and maltose assimilation tests were conducted at a temperature of 20 °C. Distinct colonies of microorganisms were observed in the studied samples, identified as MCA1, MCA2, and MCA3 (isolated from the distillery the Del Rey still), and MCE1, MCE2, and MCE3 (isolated from the commercial brewer's yeast sample), each exhibiting unique morphological characteristics. Notably, the MCE3 colony demonstrated positive results in maltose assimilation during the sugar assimilation test. Similarly, the MCA2 and MCA3 colonies exhibited significant results in both glucose and maltose assimilation tests, indicating their potential utility in beer fermentation.

Keywords: craft; fermentation; glucose; maltose; *saccharomyces cerevisiae*.

Data de submissão: 30/08/2023.
Data de aprovação: 21/08/2024.
DOI: 10.52138/citec.v16i1.308

1 INTRODUÇÃO

A cerveja é uma bebida alcoólica fabricada por meio da fermentação de carboidratos derivados do amido encontrados em cereais maltados, como cevada, trigo e milho. Seus componentes principais são água, malte, levedura e lúpulo, que, conforme a combinação de variedades ou técnicas de processamento, podem resultar em uma grande diversidade de sabores, tonalidades e fragrâncias. Adicionalmente, outros elementos podem ser adicionados conforme a finalidade comercial ou sensorial do produto. Aspectos tecnológicos, como a temperatura de fermentação, também têm influência nas características da cerveja (Carvalho; Rossi; Silva, 2007; Rosa; Afonso, 2015).

A produção de cerveja tem como base a transformação da fonte de amido em mosto, um líquido açucarado, que posteriormente é fermentado por leveduras para gerar etanol. Para alcançar esse resultado, o processo de fabricação da cerveja passa por várias etapas, abrangendo desde o preparo dos ingredientes até o envase final. Essas etapas são: maltagem, brassagem, filtração, fervura, resfriamento, fermentação, maturação e envase (Trebisacce, 2022).

Sacharomyces é o gênero de leveduras mais utilizado na produção de cerveja no Brasil, sendo classificada de acordo com suas características no final do processo de fermentação: as células adsorvidas nas bolhas de CO_2, são carreadas até a superfície do mosto onde são coletadas até a superfície e são chamadas de leveduras de alta fermentação, que fermentam em temperaturas de 16 a 25 °C; já as leveduras que floculam no final da fermentação, sendo coletadas na base do fermentador, são chamadas de leveduras de baixa fermentação, e fermentam em temperaturas de 8 a 15 °C. No Brasil, atualmente, apenas pequenas indústrias que fabricam cervejas especiais trabalham com alta fermentação (Rebello, 2009).

Sabe-se que no mercado cervejeiro, existe uma grande dependência por matéria-prima importada. Pesquisadores informam que os ingredientes da cerveja: o malte, o lúpulo e a levedura são de origem estrangeira de países como Alemanha, Bélgica ou Estados Unidos,

Ciência & Tecnologia
Fatec-JB

ISSN: 2178-9436

como exemplo. Neste sentido, pesquisadores afirmam que o setor cervejeiro no Brasil necessita de leveduras próprias, sobre a utilização de leveduras brasileiras que diminuiriam a dependência de leveduras importadas e permitiram a regionalização do produto, valorizando o conceito de personalidade das cervejas especiais (Da Silva *et al.*, 2011).

Neste contexto, explorando-se os ambientes de produção de cachaça, em que há existência de inúmeros microrganismos não identificados, através de caracterização morfológica e testes de fermentação, novas possibilidades podem atender processos fermentativos, incluindo a indústria cervejeira, consequentemente melhorando no âmbito econômico, logo que eles podem ficar menos dependentes da importação de leveduras.

Esta pesquisa visa então, caracterizar e identificar microrganismos existentes no ambiente fermentativo da produção de cachaça, avaliando-se a possibilidade para que possa ser utilizada na produção de cerveja artesanal.

2 MATÉRIA-PRIMA BÁSICA PARA A PRODUÇÃO DE CERVEJA

Os ingredientes que compõem a produção da cerveja são água, malte, lúpulo e a levedura (fermento).

A água é um dos mais importantes ingredientes da cerveja, representando 93 % da sua composição, portanto sua composição deve ser adequada, já que resíduos sólidos dissolvidos na água podem afetar significativamente a propriedade do produto (Salimbeni; Meneguetti; Rolim, 2016).

O malte de cevada consiste em aproximadamente 65-68 % de amido, 10-17% de proteína, 4-9 % de β-glucanos, 2-3 % de ácidos graxos e 1,5-2.5 % de minerais (Quinde, Ullrich; Baik, 2004). O malte que não passa pela torrefação é chamado malte base, utilizado em maior proporção na produção de cerveja, pois apresenta elevado poder de quebra de amido devido à presença das enzimas, principalmente, a α-amilase e a β-amilase. A α-amilase é responsável pela quebra interna das ligações glicosídicas α-(1,4), o que resulta na formação de dextrinas (carboidratos não fermentescíveis) e oligossacarídeos. A β-amilase é responsável pela clivagem das ligações α-(1,4) destes oligossacarídeos a partir da extremidade não redutora da cadeia, o que resulta na formação de moléculas fermentescíveis, como, maltose e maltotriose (Derde *et al.,* 2012).

Também é possível torrar o grão, como é feito no processamento do café, caramelizando e obtendo-se produtos da reação de Maillard. Isso melhora a estabilidade da cerveja, mas também pode levar à indisponibilidade de alguns aminoácidos importantes para a nutrição das leveduras, resultando na formação de certos ésteres que afetam o buquê da bebida. Os maltes torrados podem ser usados para produzir cervejas com cores diferentes (Rebello, 2009).

Pode ser feito também a utilização do milho e do arroz na produção do malte, que é muito empregado para produzir uma cerveja mais límpida e com menos corpo quando comparada a uma cerveja puro malte (KUNZE, 2014). Milho é um adjunto amiláceo não-maltado que contém 73-80 % de carboidratos, 8-12 % de proteína, 5-6 % de pentose e α-glucanos, 4 % de celulose, 4-6 % de lipídeos e 1,5 % de cinzas em sua composição seca. Logo, o rendimento do milho é maior devido à sua quantidade de carboidrato ser superior à do malte (63-65 %).

O Lúpulo é o mais importante conservante para o mosto. A flor do lúpulo é desidratada e tem um sabor amargo, mas também pode ser usado o extrato de lúpulo, que contém compostos aromáticos e amargos. Existem lúpulos com mais características aromáticas e outros com mais características de amargor. O cervejeiro deve misturar diferentes tipos de lúpulos para criar o buquê da bebida. O lúpulo é o último ingrediente a ser adicionado. Quando o mosto está quase

Ciência & Tecnologia
Fatec-JB
ISSN: 2178-9436

pronto, o lúpulo de amargor é adicionado e quando está pronto, o lúpulo aromatizante é adicionado (Pinto, 2018).

Uma etapa importante para o desenvolvimento do aroma da cerveja é a fermentação, porquanto as leveduras produzem diversos subprodutos de aroma, os quais se diferenciam de acordo com a cepa utilizada. Os compostos de aroma produzidos pelas leveduras compõem o buquê aromático da cerveja, em especial os álcoois de alto peso molecular e os ésteres. A escolha das cepas de levedura depende do estilo da cerveja e do perfil sensorial que se deseja produzir (Pinto, 2018).

2.1 Fermentação na produção de cachaça

De acordo com a legislação brasileira, a cachaça é uma bebida obtida pela destilação do mosto fermentado de cana-de-açúcar, com teor alcoólico entre 38 % e 48 % (v/v), a uma temperatura de 20 °C. A cachaça possui características sensoriais únicas e distintas (BRASIL, 2005). Em geral, a produção de cachaça geralmente ocorre por meio de fermentação espontânea, na qual os microrganismos naturalmente presentes nos substratos, no ambiente e nos utensílios desempenham um papel fundamental. No entanto, devido à natureza semi-contínua (com reciclo de células) e aberta do processo, novos microrganismos podem ser introduzidos, resultando em variações nas características sensoriais da bebida.

Vários tipos de microrganismos podem estar envolvidos na produção de bebidas fermentadas e sua caracterização pode ser determinante para a aferição de características químico-sensoriais. As leveduras e as bactérias estão entre os principais microrganismos adaptados às condições de fermentação. Estudos apontam que o processo fermentativo para a produção de cachaça contém alta diversidade microbiana, com predominância de *S. cerevisiae* (PATARO *et al*., 1998). Além da *Saccharomyces*, existem leveduras que são pertencentes aos gêneros: *Candida, Debaryomyces, Hanseniaspora, Kloeckera, Pichia, Saccharomyces* e *Zygosaccharomyces* (Pataro *et al*., 1998).

Neste contexto, compreendendo a possibilidade mencionada, explorando-se os ambientes de produção de cachaça no processo fermentativo sabe-se que há existência de inúmeros microrganismos que ainda não foram identificados.

Com estudos espera-se identificá-los para que futuramente novos usos possam ser indicados, sendo possivelmente uma nova possibilidade para o setor cervejeiro.

3 METODOLOGIA DA PESQUISA: coleta de leveduras utilizadas para o estudo

Para o levantamento de microrganismos presentes no ambiente de produção de cachaça, realizou-se a coleta do levedo em um alambique localizado na cidade de Frutal-MG. Para efeito de comparação, utilizou-se a levedura comercial safale – 0505 fermentis.

O experimento foi conduzido na Universidade do Estado de Minas Gerais- UEMG, unidade Ituiutaba, MG.

3.1 Preparo do meio de cultura

Para a seleção do crescimento das colônias de microrganismos no processo fermentativo, utilizou-se o meio de cultura PCA – Plate Count Ágar, em que se preparou 500 mL deste e, posteriormente esterilizou-se com calor úmido (autoclave) durante 15 minutos a 120 °C.

Ciência & Tecnologia
Fatec-JB
ISSN: 2178-9436

Ao final da esterilização, o meio de cultura foi vertido nas placas de petri esterilizadas, e estas foram devidamente identificadas e foram armazenadas em uma estufa e deixadas em repouso por 24 horas.

3.2 Diluição e inoculação dos microrganismos

Foram preparados dois frascos Erlenmeyer contendo 100 mL de água autoclavada e 3 g de glicose monohidratada. Esses frascos, juntamente com as ponteiras para pipetador automático (1 mL) e duas alças de Drigalski, foram esterilizados.

Uma vez esterilizados os materiais, cerca de 1 g de levedura (amostra do ambiente de cachaça e amostra de levedura comercial cervejeira) foi adicionada a cada Erlenmeyer, para ambientação.

Após concluído o processo mencionado, as leveduras que foram inoculadas foram deixadas em repouso por aproximadamente uma hora. Utilizando as ponteiras esterilizadas, aplicou-se 0,1 mL de cada amostra nas placas com meio de cultura identificadas como cachaça e cerveja, com 3 repetições.

Após um período de três dias armazenado em uma estufa microbiológica a uma temperatura de 30 ± 1 °C, foi realizada a análise do crescimento dos microrganismos presentes nas placas, bem como a contagem deles.

3.3 Caracterização morfológica dos microrganismos (Unidades Formadora de Colônias - UFC)

A caracterização morfológica foi realizada conforme descrito no quadro 1, procedeu-se à caracterização morfológica das colônias dos microrganismos, com as seguintes descrições:

Quadro 1 - Parâmetro e descrição das características avaliadas sobre os microrganismos desenvolvidos nos meios de culturas testados nessa pesquisa

Parâmetros	Descrição
Forma	Puntiforme, filamentosa, circular
Elevação	Plana, convexa
Margem	Inteira, ondulada, filamentosa
Superfície	Lisa, rugosa, polvilhada, fosca, brilhosa

Fonte: os autores (2023)

3.4 Isolamento das colônias e teste com fonte de açúcares

Na sequência da caracterização morfológica, as diferentes colônias foram isoladas em novas placas. Para cada isolado foi procedida a transferência utilizando uma alça de inoculação devidamente esterilizada. Posteriormente, foi coletada uma porção da colônia e transferida para novas placas Petri contendo o meio de PCA.

A transferência para as novas placas foi realizada em três repetições para cada isolado, mantendo assim uma reserva de segurança e uma amostra para repiques a serem usados nas etapas posteriores. As placas foram mantidas em estufa microbiológica a 30 °C por 24 horas e depois armazenadas em geladeira durante a condução dos testes.

Foi utilizado meio basal de nitrogênio para o teste de assimilação de fonte de carbono, com glicose e maltose utilizadas como fonte de açúcar (Wickerham; Burton,1948); Wickerham, 1951; Lodder; Kreger Van-Rij, 1952) *Apud* Van Der Walt; Yarrow, 1984).

Ciência & Tecnologia
Fatec-JB

ISSN: 2178-9436

Preparou-se os três meios líquidos contendo respectivamente as seguintes soluções, apenas peptona como fonte de nitrogênio (utilizado como testemunha), glicose e maltose, que foram esterilizados em autoclave a 120 ºC por 15 min, assim como os tubos de ensaio, que foram utilizados para os testes.

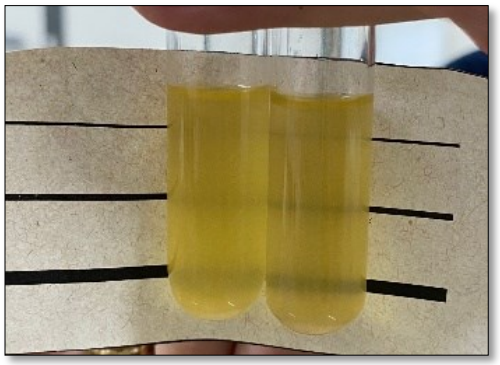
O esquema está representado na Figura 1, em que a partir de cada colônia que foi isolada foi procedida a transferência utilizando uma alça de inoculação e flambada na chama da lamparina. Foi coletada uma porção da colônia isolada e transferida para os tubos de ensaio contendo 5 mL de meio contendo:

- apenas fonte de nitrogênio (N);
- fonte de nitrogênio mais glicose (G);
- fonte de nitrogênio mais maltose (M).

Posteriormente procedeu-se a incubação a temperatura de 20 °C por sete dias e avaliou-se o crescimento de acordo com a visibilidade de três traços de diferentes espessuras contidos em um cartão colocado atrás dos tubos como ilustrado a seguir (Figura 2), sendo consideradas:

- (-) negativo: 3 traços visíveis;
- (w+) positivo fraco: 2 traços (mais fortes e intermediário) são visíveis;
- (+) positivo: nenhum traço visível ou somente o traço mais forte é visível.

Figura 1 - Ilustração da realização do teste com assimilação de açúcares



Fonte: os autores (2023)

4 RESULTADOS DO ISOLAMENTO E CLASSIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DOS MICRORGANISMOS

Nos quadros 2 e 3 apresenta-se detalhadamente os resultados obtidos a partir da análise dos dados coletados, seguidos de uma discussão sobre as implicações e interpretações desses achados.

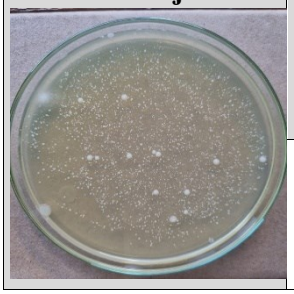
Como primeiro resultado observou-se o crescimento de 300 colônias na amostra de levedura comercial de produção de cerveja, dentre esse número identificou-se três tipos diferentes morfologicamente de microrganismos.

A colônia classificada como MCE1 apresentou características tendo forma puntiforme, elevação plana, com a margem inteira e a superfície polvilhada fosca. A colônia MCE2 foi classificada tendo como forma circular, elevação convexa, margem inteira e sua superfície como lisa e brilhosa. Por fim, a terceira colônia, classificada como MCE3 de microrganismo

Ciência & Tecnologia
Fatec-JB
ISSN: 2178-9436

exibiu forma circular, a elevação plana, a margem inteira e a superfície lisa e fosca, conforme ilustrado no Quadro 2.

Quadro 2 - Classificação morfológica dos microrganismos de cerveja

Cerveja	Quantidade de colônias	Forma	Elevação	Margem	Superfície
	300	MCE1 Puntiforme	MCE1 Plana	MCE1 Inteira	MCE1 Polvilhada fosca
	Diferentes tipos de colônias **3**	MCE2 Circular	MCE2 Convexa	MCE2 Inteira	MCE2 Lisa brilhosa
		MCE3 Circular	MCE3 Plana	MCE3 Inteira	MCE3 Lisa fosca

Fonte: os autores (2023)

Os resultados obtidos a partir da inoculação das leveduras coletadas no ambiente de produção de cachaça na região do triangulo mineiro estão apresentados no Quadro 3. A partir da análise, identificou-se 65 colônias também com 3 tipos diferentes.

A colônia caracterizada como MCA1 exibiu características de forma filamentosa, elevação plana, margem lobulada e superfície rugosa e fosca. A colônia classificada como MCA2 apresentou forma circular, elevação plana, margem inteira e superfície lisa e fosca. Finalizando, a colônia caracterizada como MCA3 demonstrou forma circular, elevação plana, margem inteira e superfície lisa e brilhante.

Quadro 3 - Classificação morfológica dos microrganismos de cachaça

Cachaça	Quantidade de colônias	Forma	Elevação	Margem	Superfície
	65	MCA1 Filamentosa	MCA1 Plana	MCA1 Lobulada	MCA1 Rugosa fosca
	Diferentes tipos de colônias **3**	MCA2 Circular	MCA2 Plana	MCA2 Inteira	MCA2 Lisa fosca
		MCA3 Circular	MCA3 Plana	MCA3 Inteira	MCA3 Lisa brilhosa

Fonte: os autores (2023)

Foi observado um número considerável de isolados descobertos no estudo, em tralhados da mesma natureza mudando os substratos, foram observados números menores de colônias. Guimarães (2005) trabalhando com isolamento e seleção de cepas de *S. cerevisiae* para produção de vinho, isolou 61 colônias de leveduras nesta etapa do trabalho. De modo semelhante, porém de forma significativamente maior, Figueiredo (2021) com isolamento e seleção de leveduras fermentadoras da cana-de-açúcar para a produção de cachaça na região do brejo paraibano, obteve 158 colônias de leveduras isoladas para a seleção.

A opção de deixar em isolamento essas leveduras no período de três dias após o início do processo, teve como vantagem selecionar aquelas dominantes da fermentação, e reduzindo significativamente a incidência de microrganismos contaminantes, bactérias e até mesmo

Ciência & Tecnologia
Fatec-JB
ISSN: 2178-9436

leveduras não-*Saccharomyces*. Pois a capacidade de *S. cerevisiae* em se destacar em relação a outras espécies foi observada em um experimento, no qual as espécies não-*Saccharomyces* perderam a capacidade de crescimento quando cultivadas em associação (WANG *et al*., 2016).

4.1 Caracterização fisiológicas da assimilação de açúcares

Na segunda etapa do projeto, foi realizado um teste de assimilação de açúcares, com três repetições, utilizando-se as três colônias isoladas a partir da amostra de levedura de cerveja (MCE1, MCE2 e MCE3) e as três colônias isoladas a partir de levedo da produção de cachaça (MCA1, MCA2 e MCA3).

Estas foram inoculadas em meio líquido basal de Nitrogênio (testemunha), e nas fontes de açúcares glicose e maltose e foram observados durante sete dias.

Nas cepas isoladas a partir da amostra comercial de leveduras para cerveja, os resultados para testemunha foram significativos MCE2 e MCE3, apresentando w+ (positivo fraco) a partir do sexto dia e do quarto dia, respectivamente.

Na solução de glicose, nenhuma das cepas apresentou resultado significativo. Na maltose, as três colônias de microrganismos apresentaram resultados significativos, com w+ (positivo fraco) a partir do quinto dia. Esses resultados estão demonstrados nos Quadros 4, 5 e 6.

Quadro 4 - Resultados da avaliação das colônias a partir da levedura de cerveja MCE1

Colônia MCE1	Testemunha	Glicose	Maltose
Dia 1	-	-	-
Dia 2	-	-	-
Dia 3	-	-	-
Dia 4	-	-	-
Dia 5	-	-	-
Dia 6	-	-	-
Dia 7	-	-	-

Fonte: os autores (2023)

Quadro 5 - Resultados da avaliação das colônias a partir da levedura de cerveja MCE2

Colônia MCE2	Testemunha	Glicose	Maltose
Dia 1	-	-	-
Dia 2	-	-	-
Dia 3	-	-	-
Dia 4	-	-	-
Dia 5	-	-	-
Dia 6	w+	-	-
Dia 7	w+	-	-

Fonte: os autores (2023)

Quadro 6 - Resultados da avaliação das colônias a partir da levedura de cerveja MCE3

Colônia MCE3	Testemunha	Glicose	Maltose
Dia 1	-	-	-
Dia 2	-	-	-
Dia 3	-	-	-
Dia 4	w+	-	-

Ciência & Tecnologia
Fatec-JB
ISSN: 2178-9436

Dia 5	w+	-	w+
Dia 6	w+	-	w+
Dia 7	w+	-	w+

Fonte: os autores (2023)

Posteriormente, da mesma maneira foi feito com as colônias da cachaça, sendo igualmente divididos em números de repetições e identificados. Em vista disso, os resultados apresentados que foram significativos mostrando w+ (positivo fraco) na solução testemunha para as colônias MCA2 e MCA3 a partir do sexto e no sétimo dia, respectivamente.

Na solução de glicose apenas a colônia MCA2 apresentou w+ (positivo fraco) a partir do sexto dia. Finalmente, na solução de maltose os resultados significativos apresentados w+ (positivo fraco) foram nas colônias MCA2 e MCA3, a partir do quinto e do quarto dia (Quadros 7, 8 e 9).

Quadro 7 - Resultados da avaliação das colônias a partir da levedura de cachaça MCA1

Colônia MCA1	Testemunha	Glicose	Maltose
Dia 1	-	-	-
Dia 2	-	-	-
Dia 3	-	-	-
Dia 4	-	-	-
Dia 5	-	-	-
Dia 6	-	-	-
Dia 7	-	-	-

Fonte: os autores (2023)

Quadro 8 - Resultados da avaliação das colônias a partir da levedura de cachaça MCA2

Colônia MCA2	Testemunha	Glicose	Maltose
Dia 1	-	-	-
Dia 2	-	-	-
Dia 3	-	-	-
Dia 4	-	-	-
Dia 5	-	-	w+
Dia 6	w+	w+	w+
Dia 7	w+	w+	w+

Fonte: os autores (2023)

Quadro 9 - Resultados da avaliação das colônias a partir da levedura de cachaça MCA3

Colônia MCA3	Testemunha	Glicose	Maltose
Dia 1	-	-	-
Dia 2	-	-	-
Dia 3	-	-	-
Dia 4	-	-	w+
Dia 5	-	-	w+
Dia 6	-	-	w+
Dia 7	w+	-	w+

Fonte: os autores (2023)

Ciência & Tecnologia
Fatec-JB

ISSN: 2178-9436

Segundo Reis (2011) a capacidade de um microrganismo de crescer e sintetizar um produto em um determinado ambiente é influenciada pelas suas características genéticas. Portanto, o sucesso no desenvolvimento de um processo fermentativo depende principalmente da seleção e mutação de uma cepa adequada, bem como da compreensão dos efeitos dos parâmetros ambientais e do crescimento do produto. A diferença da temperatura também influência no crescimento deles.

Em outros trabalhos que seguem a mesma finalidade houve resultados semelhantes, Freita *et al.* (2014) trabalhando com estirpes de leveduras assimiladoras de fonte de carbono para a produção de etanol, segundo a análise realizada no trabalho, as cepas C69 e C128 demonstraram resultados semelhantes, com exceção da rafinose, que foi assimilada apenas pela cepa C69. A melibiose foi assimilada pelas cepas C69 e C128, porém com atividade fraca e/ou lenta, enquanto a cepa C271 não conseguiu assimilá-la, apresentando coloração rosa. Todas as cepas foram capazes de assimilar fontes de carbono como trealose, amido solúvel, glicose, sacarose e lactose. Contudo, as cepas *S. cerevisiae* e CAT não assimilaram a xilose, que foi de particular interesse neste estudo.

Desse modo, os resultados obtidos para este trabalho demonstram que ambas as colônias de microrganismos foram assimiladas em todas as soluções, no entanto com atividade fraca e lenta. Entretanto, a solução de maltose (a de maior interesse para o trabalho) apresentou melhor assimilação para os microrganismos de cachaça, com resultados superiores ao longo dos sete dias.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na primeira etapa do estudo, foram identificadas 300 colônias de três tipos distintos de microrganismos na levedura de cerveja. A partir disso, foram isolados e identificados três tipos de microrganismos com base em suas características morfológicas. Da mesma forma, na levedura de cachaça, foram identificadas 65 colônias de três tipos morfologicamente diferentes, as quais também foram isoladas e identificadas.

Após isso, foi realizado um teste de assimilação de açúcares com foco nos resultados da maltose, o açúcar presente no malte, obtendo-se os seguintes resultados: na levedura de cerveja, apenas as colônias MCE3 apresentaram resultados significativos para a assimilação de maltose. Por outro lado, no ambiente de cachaça, as colônias MCA2 e MCA3 demonstraram resultados significativos no consumo da maltose, mostrando um desenvolvimento mais efetivo em relação ao açúcar em questão.

Esse resultado foi positivo, e aponta que a diversidade de microrganismos presentes no ambiente de produção de cachaça pode ser utilizada para outros fins e novas possibilidades. Desse modo, sugere-se que estudos futuros sejam conduzidos para investigar mais a fundo essas colônias de microrganismos (MCA2 e MCA3), a fim de confirmar sua identificação e avaliar sua capacidade de produzir cerveja.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Instrução Normativa Nº 13, de 29 de junho de 2005. Regulamento Técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça. Brasília: **Diário Oficial da União**. Seção 1: 3-5, 2005.

Ciência & Tecnologia
Fatec-JB

ISSN: 2178-9436

CARVALHO, G.B.M.; ROSSI, A.A.; ALMEIDA E SILVA, J.B. (2007). Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 2ª parte – A fermentação. **Revista Analytica,** n. 26, p. 46-54.

DA SILVA, R. F. C., PINHEIRO, E. M., SERRA, M. C., RODRIGUES, A. D. L. P., & VIEIRA, A. C. S. A produção de cerveja no Brasil. **Revista Citino**, v. 1, n. 1, p. 34-42, 2011.

DERDE, L. J.; GOMAND, S. V.; DOURTIN, C. M.; DELCOUR, J. A. Hydrolysis of b-limit dextrins by α-amylases from porcine pancreas, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas saccharophila* and *Bacillus stearothermophilus*. **Food Hydrocolloids**. v. 26, n. 1, p. 232-239, 2012.

FIGUEIREDO, D. R. Isolamento e seleção de leveduras fermentadoras da cana-de-açúcar para produção de cachaça na região do brejo paraibano. 53f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - PPGCA) - **Universidade Estadual da Paraíba**, Campina Grande, 2021.

FREITA, L. A.; ROSSINI, L. A. de C. J.; GOMES, E. S.; RODRIGUES, G.; LOPES, E. M.; FERREIRA, O. E.; MUTTON, M. J. R. Estirpes de leveduras assimiladoras de fontes de carbono para produção de etanol. **Ciência & Tecnologia**, [S. l.], v. 6, n. 1, 2014.

GUIMARÃES, T. M. **Isolamento, identificação e seleção de cepas de levedura *Saccharomyces cerevisiae* para elaboração de vinho**. 2005. 117f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005.

KUNZE, W. **Technology Brewing & Malting**.5. ed. Berlim, Alemanha: VLB Berlin, 2014.

LODDER, J., & KREGER-VAN RIJ, N. J. W. The Yeasts: **A Taxonomic Study. North-Holland Publishing Company**, 1952.

QUINDE, Z.; ULLRICH, S. E.; BAIK, B. K. Genotypic variation in color and discoloration potential of barley-based food products. **Cereal Chemistry**. v. 81 p. 752–758, 2004.

PATARO, C.; SANTOS, A.; CORREA, S.R.; MORAIS, P.B.; LINARDI, V.R.; ROSA, C.A. Physiological characterization of yeasts isolated from artesanal fermentation in an aguardente distillery. **Revista de Microbiologia**. 29: 104-108, 1998.

PINTO, M. B. C. Isomerização de ácidos amargos de lúpulo cascade cultivado no Brasil e seu desempenho durante a fermentação da cerveja. Dissertação (mestrado) – **Universidade Estadual de Campinas**, Faculdade de Engenharia de Alimentos. 2018.

REBELLO, F. D. F. P. Produção de cerveja. **Revista Agrogeoambiental**, 1, 147-148, 2009.

REIS, V. R. Caracterização de linhagens selvagens de *Saccharomyces cerevisiae* isoladas de processos fermentativos para produção de etanol. Escola Superior de Agricultura ¨Luiz de Queiroz¨. **Universidade de São Paulo**. Piracicaba, 2011.

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

Ciência & Tecnologia
Fatec-JB

ISSN: 2178-9436

SALIMBENI, J. F.; MENEGUETTI, M.; ROLIM, T. F. **Caracterização da água e sua influência sensorial para produção de cerveja artesanal**. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Engenharia Química), Universidade São Francisco, Campinas, 2016.

TREBISACCE, G. R. Avaliação de estirpes de bactérias ácido láticas como fermento adjunto na produção de cervejas ácidas. **Repositório Institucional Pantheon**, 2022.

VAN DER WALT, J. P.; YARROW, D. Methods for the isolation, maintenance, classification, and identification of yeasts. In The Yeasts: **A Taxonomic Study** (pp. 45-104). Elsevier, 1984.

WANG, C.; MAS, A.; ESTEVE-ZARZOSO, B. The interaction between *Saccharomyces cerevisiae* and non-*Saccharomyces* yeast during alcoholic fermentation is species and strain specific. **Frontiers in Microbiology**. V. 7, n. 502, 2016.

WICKERHAM, L. J. A critical evaluation of the nitrogen assimilation tests commonly used in the classification of yeasts. **Journal of bacteriology**, 62(4), 399-412, 1951.

WICKERHAM, L. J., & BURTON, K. A. A simplified nutrient agar for plate counts of fungi and bacteria. **Applied microbiology**, 1(3), 187-189, 1948.