



Fundação Educacional do Município de Assis  
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis  
Campus "José Santilli Sobrinho"

---

**RODOLFO JOSÉ TÓFOLI**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA  
DE CERVEJAS COMERCIAIS E ARTESANAIS**

Assis  
2014

RODOLFO JOSÉ TÓFOLI

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA  
DE CERVEJAS COMERCIAIS E ARTESANAIS.

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Química do Instituto Municipal de Ensino Superior do Município de Assis – IMESA e Fundação Educacional do Município de Assis – FEMA, com requisito parcial à obtenção do Certificado de Conclusão.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Ms. Gilcelene Bruzon  
Área de Concentração: Química

Assis  
2014

## FICHA CATALOGRÁFICA

TÓFOLI, Rodolfo José

Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química de cervejas comerciais e artesanais / Rodolfo José Tófoli – Fundação Educacional do Município de Assis – FEMA - Assis 2014.

64p.

Orientador: Gilcelene Bruzon.

Trabalho de Conclusão de Curso - Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis-IMESA.

1. Cerveja 2. Qualidade

CDD: 660  
Biblioteca da FEMA

# AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE CERVEJAS COMERCIAIS E ARTESANAIS

RODOLFO JOSÉ TÓFOLI

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Instituto Municipal de  
Ensino Superior do Município de  
Assis, com requisito do Curso de  
Graduação, analisado pela seguinte  
comissão examinadora:

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Ms. Gilcelene Bruzon

Analisadora: Prof.<sup>a</sup> Ms. Patrícia Cavani Martins de Mello

Assis  
2014

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, que sempre me abençoou, aos meus pais, familiares e amigos que sempre me apoiaram e me incentivaram, para que eu nunca desistisse dos meus sonhos.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por mais esta etapa concluída, e por todas as bênçãos em minha vida.

A professora Gilcelene Bruzon, pela orientação e pelo constante estímulo transmitido durante a elaboração deste trabalho.

Ao Centro de Pesquisa em Ciências – CEPECI, por ceder espaço para que as análises fossem realizadas, bem como aos técnicos e estagiários pela colaboração.

A banca examinadora, Patrícia Cavani Martins de Mello, pelas correções, contribuindo para o enriquecimento deste trabalho.

A todos os amigos que colaboraram direta ou indiretamente, na execução deste trabalho.

Aos meus pais, Edlene C. da S. Tófoli e Carlos A. Tófoli, por toda dedicação e empenho, servindo de exemplo para minha formação pessoal e profissional, sempre buscando o melhor para mim.

Ao meu irmão Ricardo José Tófoli, por todo apoio e por dividir comigo a família que Deus nos proporcionou.

A minha namorada Adriana Luiza Ferreira, por estar sempre ao meu lado, me incentivando e me apoiando, durante toda a caminhada, e por fazer parte da minha vida.

A minha cunhada, Ana Paula e meu cunhado, Eduardo pelo apoio e conselhos para execução deste trabalho, bem como minha sogra Neusa, por todo incentivo.

“Bem aventurado o homem que encontra sabedoria, e o homem que adquire conhecimento, pois ela é mais proveitosa que a prata, e dá mais lucro do que o ouro”.

Provérbios (3:13-14)

## RESUMO

A cerveja é uma bebida alcoólica produzida pela fermentação de açúcares redutores, presente principalmente em cereais maltados, sendo considerada uma bebida carbonatada. Apresenta grande variedade, sendo que todas devem atender aos parâmetros físico-químicos e microbiológicos estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA e de legislações específicas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. O objetivo desse trabalho foi verificar a qualidade microbiológica e físico-química em cervejas industriais, identificadas como amostras D e E; cervejas especiais, amostras C e F; e cervejas artesanais, amostras A e B, comercializados na região de Assis – SP. Para as análises microbiológicas, todas as amostras apresentaram ausência para coliformes totais e bolores, já para contagem padrão e para leveduras, apenas as amostras A e B apresentaram resultados acima dos parâmetros. Assim, as amostras C, D, E e F, de acordo com os parâmetros, são próprias para o consumo. Em relação aos resultados das análises físico-químicas, para pH, estão de acordo com os parâmetros da legislação vigente as amostras C, D e E; para proteína, apenas as amostras D e F; para dureza cálcica, apenas as amostras B e C. De modo geral as cervejas analisadas podem ser consideradas de boa qualidade. Essas apresentaram variações, mas que se justificam de acordo com seu tipo e com o processo empregado para sua fabricação.

**Palavras chave:** Cerveja; Qualidade; Microbiologia.

## ABSTRACT

Beer is an alcoholic beverage produced by the fermentation of reducing sugars, mainly present in malted grain, and is considered a carbonated beverage. Presents great variety, all of which must meet the physical, chemical and microbiological parameters established by the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply - MAPA and specific laws of the National Health Surveillance Agency. The aim of this study was to assess the microbiological quality and physico-chemical industrial beers, identified as samples D and E; special beers, samples C and F; and craft beers, samples A and B, marketed in the region of Assis - SP. For microbiological analyzes, all samples showed absence of coliforms and molds, as for standard count and yeast, only samples A and B showed results above parameters. Thus, samples C, D, E and F, according to the parameters, are suitable for consumption. Regarding the results of physicochemical analyzes for pH, are consistent with the parameters of applicable law samples C, D and E; for protein, only the samples D and F; to calcium hardness, only samples B and C. Generally analyzed beers may be considered of good quality. These show variations, but they are justified according to their type and the process used for its manufacture.

**Keywords:** Beer; Quality; Microbiology.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Processos de fermentação tipo Ale e Lager .....	18
Figura 2 - Mecanismo da reação bioquímica na cerveja, transformação dos açúcares do mosto em álcool e dióxido de carbono .....	19
Figura 3 - Tipos de cervejas classificados de acordo com a fermentação empregada .....	20
Figura 4 - Matérias primas para fabricação de cerveja.....	22
Figura 5 - Processo industrial de fabricação da cerveja .....	26
Figura 6 - Ingredientes para cerveja artesanal .....	26
Figura 7 - Equipamentos para cerveja artesanal.....	27
Figura 8 - Processo de fabricação artesanal.....	28
Figura 9 - Sequência de análise de coliformes fecais .....	44
Figura 10 - Sequência de análise para contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas (PCA) .....	45
Figura 11 - Sequência de análise para contagem de bolores e de leveduras .....	46
Figura 12 - Fluxo laminar.....	50
Figura 13 - Placas de Petri com cultura de bactérias mesófilas viáveis das amostras A e B em duplicata .....	52
Figura 14 - Placas de Petri com cultura de leveduras das amostras A e B .....	54

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros microbiológicos para cervejas.....	33
Tabela 2 - Parâmetros físico-químicos para a cerveja .....	34
Tabela 3 - Resultados microbiológicos.....	51
Tabela 4 - Resultados das análises físico-químicas.....	55

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2. HISTÓRICO</b> .....	<b>16</b>
<b>3. TIPOS DE CERVEJA</b> .....	<b>18</b>
<b>4. MATÉRIA PRIMA</b> .....	<b>22</b>
4.1 ÁGUA CERVEJEIRA .....	22
4.2 MALTES .....	23
4.3 LÚPULO .....	24
4.4 FERMENTO.....	24
<b>5. PROCESSOS</b> .....	<b>25</b>
5.1 PROCESSO INDUSTRIAL.....	25
5.2 PROCESSO ARTESANAL.....	26
<b>6. CONTAMINAÇÃO DURANTE O PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE CERVEJA</b> .....	<b>30</b>
6.1 CONTAMINANTES.....	30
6.2 TRATAMENTO .....	30
<b>7. PARÂMETROS PARA GARANTIA DA QUALIDADE DA CERVEJA</b> .....	<b>32</b>
7.1 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS .....	32
7.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....	33
<b>8. ENSINO MÉDIO</b> .....	<b>35</b>
8.1 AULA EXPERIMENTAL PARA ENSINO MÉDIO .....	37
<b>8.1.2 Roteiro</b> .....	<b>38</b>
8.1.2.1 Objetivo .....	38
8.1.2.2 Materiais.....	38
8.1.2.3 Procedimento .....	39
8.1.2.4 Questões .....	39
<b>9. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>40</b>

9.1 MATERIAL.....	40
9.1.1 Cerveja .....	40
9.1.2 Equipamentos.....	40
9.1.3 Meios de cultura .....	41
9.1.4 Reagentes .....	41
9.1.5 Reagentes preparados.....	42
9.2 MÉTODOS.....	43
9.2.1 Coliformes Totais e Termotolerantes .....	43
9.2.2 Contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas (PCA).....	45
9.2.3 Bolores e Leveduras .....	45
9.2.4 Determinação de densidade a 15° C.....	46
9.2.5 Determinação do pH.....	47
9.2.6 Proteína – Método Nitrogênio de Kjeldahl .....	47
9.2.7 Dureza Cálcica Total .....	48
9.2.8 Turbidez .....	48
9.2.9 Cor .....	49
<b>10 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>50</b>
10.1 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS.....	51
10.1.1 Resultados para contagem de bactérias aeróbias mesófilas.....	51
10.1.2 Resultados para coliformes totais.....	53
10.1.3 Resultados para bolores e leveduras .....	53
10.2 RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS .....	54
10.2.1 Resultados para densidade .....	55
10.2.2 Resultados para pH.....	56
10.2.3 Resultados para proteína .....	56
10.2.4 Resultados para dureza cálcica .....	57
10.2.5 Resultados para cor e turbidez .....	58
<b>11 CONCLUSÃO .....</b>	<b>60</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>61</b>

# 1 INTRODUÇÃO

A cerveja é uma bebida alcoólica produzida pela fermentação de açúcares redutores, presente principalmente em cereais maltados, como a cevada e o trigo, sendo considerada uma bebida carbonatada. A água é parte importante do processo de fabricação, além do lúpulo e do fermento. Dependendo do estilo de cerveja que se busca produzir, são acrescentados no processo outros adjuntos, como frutas, ervas e plantas. As variedades são classificadas de acordo com o método de produção, a origem dos insumos utilizados, a cor, o sabor e o aroma obtidos, como também a receita, fatores estes que proporcionarão a característica da cerveja (SANGION; BELTRAMELLI, 2007).

Bebidas fermentadas se diferenciam das destiladas, em relação ao processo de como são produzidas, visto que a fermentação é um processo bem mais lento que o processo de destilação. Fermentação é definida como uma reação espontânea de um determinado composto orgânico que se decompõe pela presença de uma levedura, como no caso da cerveja (NAVES, 2011).

Povos como os babilônios, egípcios e sumérios fabricavam vários tipos de cervejas a base de trigo, mel e cevada. Nessa época, o processo de fabricação era bem diferente do atual, tendo como característica principal ser escura e forte. Muitas vezes, substituía-se a água, que estava sujeita a todos os tipos de contaminação e responsável por diversas doenças à população, pela cerveja que era mais segura ao consumo. A base do produto, que é a cevada fermentada, manteve-se desde aquela época (WE CONSULTORIA, 2009).

No Brasil, as primeiras cervejas foram desembarcadas junto com a família real portuguesa. E em 1836, começou o processo de fabricação nacional (ERTHOL, 2007). Atualmente, o Brasil é classificado como o terceiro maior produtor do mundo, atrás de Estados Unidos e China, superando Rússia e Alemanha. É considerada a bebida preferida de 2/3 dos brasileiros, com 64% da preferência (FLARYS, 2014).

Segundo dados do Sistema de Controle de Produção de Bebidas da Receita Federal - SICOBE, a produção de cerveja no Brasil, nas últimas décadas, cresceu 64%, passando de 8,2 bilhões para 13,4 bilhões de litros anuais (FLARYS, 2014).

No Brasil, é classificado como cerveja, quando esta apresenta no mínimo, 55% de cereais maltados em sua composição. É considerado pouco, quando comparado às quantidades de outras cervejas que não fazem uso de adjuntos cervejeiros que são usados por grandes cervejarias para baratear custos de produção, como arroz e milho. Já as cervejas premium são produzidas com 100% de cereais maltados (FLARYS, 2014).

Segundo Gabriel di Martino, cervejeiro da Cervejaria St. Gallen, em Teresópolis, Região Serrana do Rio de Janeiro, para as cervejas especiais, todo o processo é feito de forma artesanal e o tempo de produção sempre é respeitado, para que o produto final tenha a qualidade desejada (FLARYS, 2014).

Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo identificar e analisar a possível presença de microrganismos que são de controle nas indústrias, tais como: coliformes totais, coliformes termotolerantes, Contagem Padrão, Bolores e Leveduras, em alguns tipos específicos de cervejas industriais, especiais e artesanais, comercializados na região de Cândido Mota - SP e Assis – SP. Também foram realizadas análises físico-químicas para pH, dureza cálcica, cor, turbidez, densidade específica e proteína destas cervejas.

## 2 HISTÓRICO

Por volta de 10 mil anos, o homem descobriu o processo de fermentação, em que grãos de cereais, como trigo e cevada, em contato com água e a umidade, fermentavam, surgindo assim, em pequenas quantidades, as primeiras bebidas alcoólicas. Existem evidências de que as primeiras bebidas e cervejarias originaram na região da Mesopotâmia, onde a cevada cresce em estado selvagem. Estes registros têm aproximadamente 6 mil anos e remetem aos Sumérios, povo mesopotâmico (WE CONSULTORIA, 2009).

A primeira cerveja produzida foi, provavelmente, um acidente. Documentos históricos mostram que, em 2100 a.C., os sumérios alegravam-se com uma bebida fermentada, obtida de cereais. Os egípcios logo aprenderam a arte de fabricar cerveja e carregaram a tradição no milênio seguinte, agregando o líquido a sua dieta diária (WE CONSULTORIA, 2009).

Em 1516, elaborou-se a lei de pureza, a qual determinava que a cerveja deveria ser composta apenas pelos ingredientes: lúpulo, malte e água. Duque Wilhelm IV da Baviera promulgou, em 23 de abril de 1516, regulamentações de defesa do consumidor, protegendo-os de que a cerveja não teria nenhum outro aditivo ou componente “estranho” ou “exótico”, a qual se vigora até os dias atuais (WE CONSULTORIA, 2009).

A intenção da lei não era somente garantir a qualidade da cerveja e controlar seu preço, o que limitava a criatividade dos produtores, mas também garantir que grãos mais valiosos e em falta naquele tempo, como o trigo e o centeio, deixassem de ser utilizados na fabricação do pão para serem utilizados na cerveja (PEDROSO, 2012).

No início da Idade Média, os mosteiros europeus tomaram a frente na fabricação da bebida que passou a ter as características organolépticas conhecidas atualmente (WE CONSULTORIA, 2009).

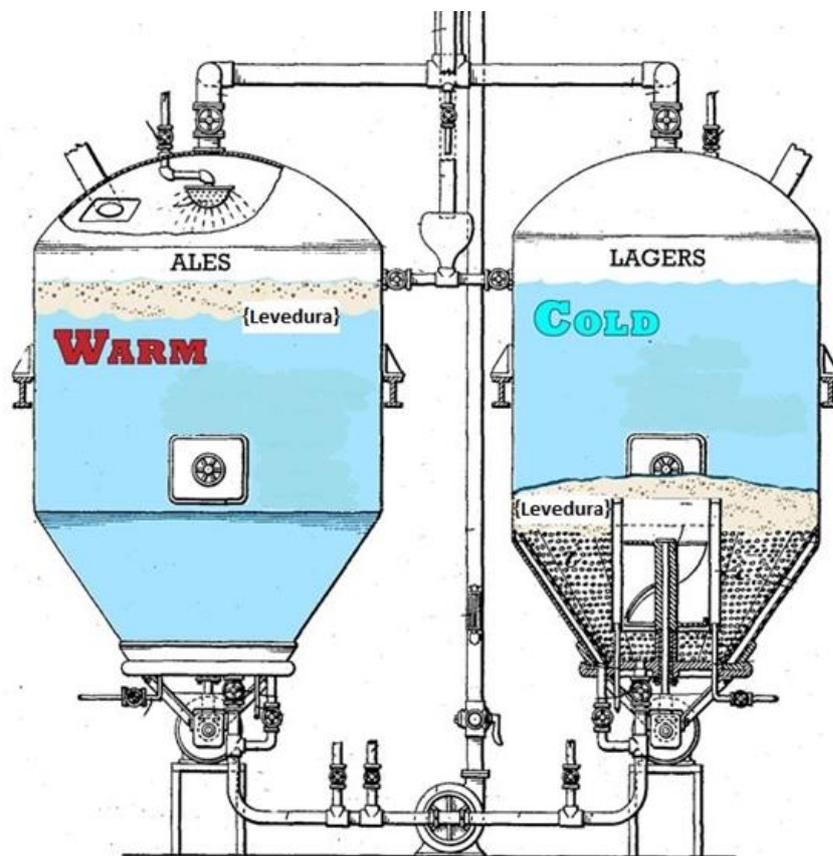
Até o século XVI, a existência de micro-organismos era ainda desconhecida, sendo assim, a cerveja era fermentada por cepa selvagem provinda pelo ar ou por parte de

produção anterior. Contudo, o fermento não era um ingrediente adicionado separado, como é feito nos processos atuais (PEDROSO, 2012).

A lei Reinheitsgebot compõe, atualmente, parte do documento chamado de Biersteuergesetz (BStG) ou “Lei de Taxação da Cerveja”, que define como a cerveja deve ser e como ela deve ser classificada de acordo com o teor alcoólico. Essa lei implantada foi importante para que houvesse uma maior liberdade quanto aos ingredientes para as cervejas destinadas à exportação ou intituladas “especiais”, bem como introduziu o fermento e classificou melhor as cervejas como de alta e baixa fermentação (PEDROSO, 2012).

### 3 TIPOS DE CERVEJA

A classificação de cervejas, de acordo com a legislação brasileira, é sob as diferentes características do processo de fermentação e do produto acabado, podendo ser dividida em dois grandes grupos: Ale e as Lager (Figura 1), nos quais são inseridos vários tipos de cervejas (AQUARONE *et al.*, 2001).

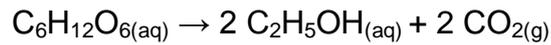


**Figura 1 – Processos de fermentação tipo Ale e Lager (In: AULER, 2012)**

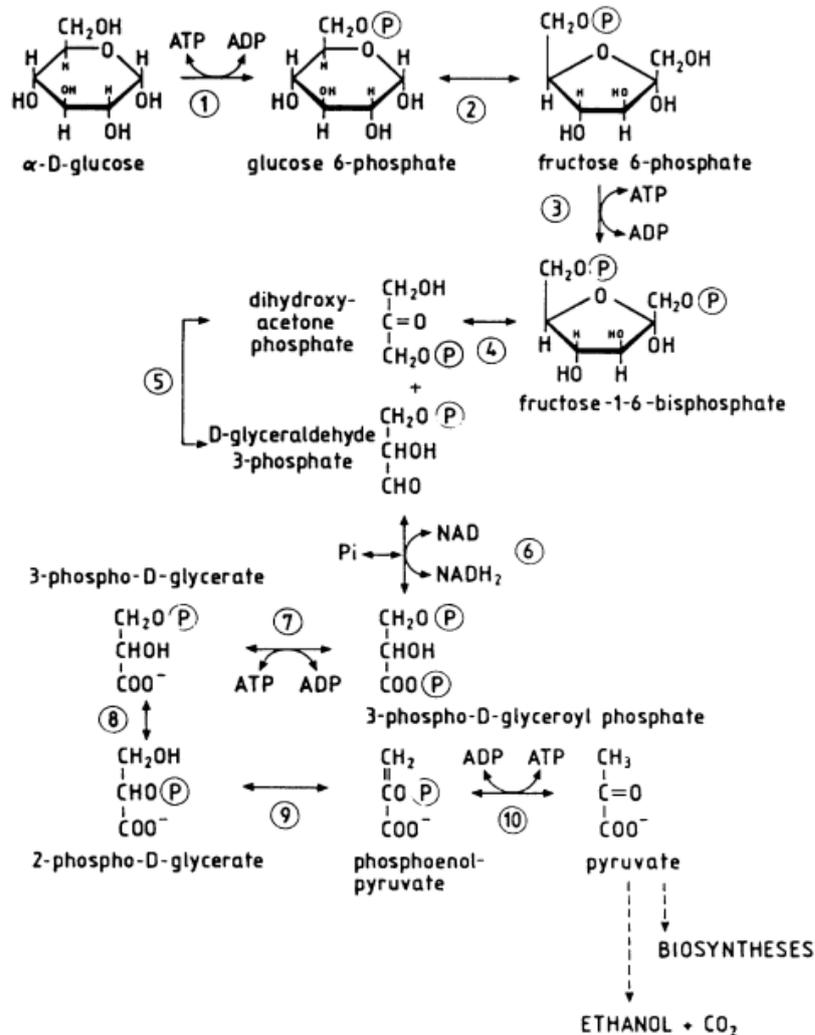
No processo de alta fermentação, a levedura cervejeira emerge à superfície do mosto durante a fermentação tumultuosa, que ocorre em média de 15 a 24°C, onde grande parte das leveduras é da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, em uma cerveja do tipo Ale. Já no processo de baixa fermentação, a levedura cervejeira empregada é da espécie *Saccharomyces uvarum*, que se acumula ao fundo do

fermentador durante e após a fermentação, que ocorre em média de 6 a 12°C, produzindo uma cerveja do tipo Lager (AQUARONE *et al.*, 2001).

No processo de fermentação, leveduras utilizam o açúcar extraído dos cereais, presente no mosto para a produção de CO<sub>2</sub> e álcool, segundo a reação geral:

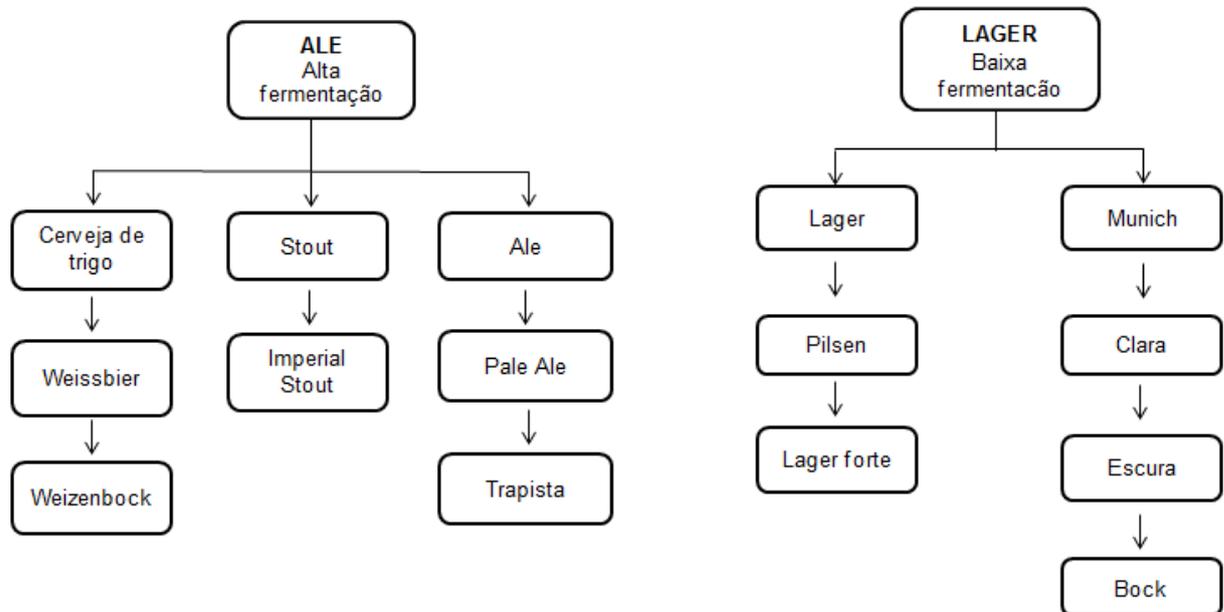


Para que a transformação do açúcar em etanol aconteça, deve ocorrer o mecanismo mostrado na figura 2.



**Figura 2 - Mecanismo da reação bioquímica na cerveja, transformação dos açúcares do mosto em álcool e dióxido de carbono (In: BRASIL, 2014)**

Os mais de 120 diferentes tipos de cervejas são divididos em dois grandes grupos, sendo que alguns desses estão representados na figura 3.



**Figura 3 - Tipos de cervejas classificados de acordo com a fermentação empregada (In: BRASIL, 2014)**

Na figura 3, mostra a classificação geral dos tipos de cervejas existentes divididas em Ale, onde o processo ocorre em alta fermentação, e Lager cujo processo é de baixa fermentação.

Dentre os tipos mais comuns de cervejas Ale, temos as feitas com trigo, tipo Weissbier e a Weizenbock, cervejas de cor castanha escuro, opaca, com graduação alcoólica em média de 5 a 6%, apresentam um corpo de cerveja mais denso e residual de fermento. As Imperial Stout são cervejas escuras, que lembram o café, cacau, tostado, mais seca e com graduação alcoólica de 4 a 5%.

A Pale Ale é uma cerveja mais clara, de cor amarelada, dourada ou âmbar teor alcoólico de 4 a 5%, com amargor médio, com notas cítricas e frutadas. As Trapistas são as classificadas como provenientes dos mosteiros, produzidas pelos monges, variam da cor dourada, marrom, cobre ao preto, com aroma e sabor que lembram o café, frutado, tostado, com graduação alcoólica que vai de 5 a 11 %.

As cervejas do estilo Lager são as de baixa fermentação, dentre seus principais estilos estão as Lagers Pilsen e Lager forte, são cervejas geralmente claras e brilhantes, do amarelo ao dourado, com paladar mais seco, onde se sente mais o sabor dos maltes utilizados, são mais leves com graduação alcoólica em média de 5% e menos aromáticas do que as ales.

As Lagers do tipo Munich, como o nome já diz, tradicionais de Munich na Alemanha, podem ter cores clara, do amarelo ao dourado, como também as escuras, do cobre, marrom escuro, avermelhadas escuras. Com aroma e sabor pronunciado do malte, algumas do malte tostado, e amargor médio ao alto, corpo mais denso e graduação alcoólica de 4,5 a 5,6 %.

## 4 MATÉRIA PRIMA

De acordo com a antiga lei de pureza Reinheitsgebot, publicada no ano de 1516, na Alemanha, estabelece que a bebida deveria ser produzida somente a partir de água, malte e lúpulo (PEDROSO, 2012).

A figura 4 mostra as matérias primas para fabricação da cerveja, são o malte, água, lúpulo e levedura.



**Figura 4 - Matérias primas para fabricação de cerveja (In: ALVES, 2013)**

### 4.1 ÁGUA CERVEJEIRA

A água corresponde por cerca de 90% do volume final da cerveja e para cada litro de cerveja produzida são consumidos de 5 a 10 litros de água durante a fabricação (REINOLD, 2011).

É de suma importância na indústria cervejeira, pois além de ser responsável por características finais da cerveja, como a cor e o sabor, desempenha papel na

atividade operacional como, por exemplo, na limpeza dos equipamentos, lavagem de vasilhames, pisos e no resfriamento (REINOLD, 2011).

No preparo e tratamento da água cervejeira, são considerados diversos controles físico-químicos, como: controle e ajuste de pH (5,5 em média); deve ser filtrada; não conter cloro; e isenta de impurezas, odor e sabor (GOMES, 2010).

Para fazer cerveja em casa, preferencialmente, utiliza-se água mineral, pois é isenta de cloro e grande parte contém poucos sais minerais, permitindo que o cervejeiro ajuste-a de acordo com o tipo de cerveja a ser produzida. Pode ser utilizado também um filtro de carvão ativo para retirar o cloro da água proveniente das abastecedoras urbanas, este filtro retira aproximadamente 85% do cloro (GOMES, 2010).

## 4.2 MALTES

O termo malte é utilizado para se referir a cereais que passaram por processo de malteação, que consiste em deixar estes grãos com uma grande quantidade de enzimas que irão reduzir o amido presente em açúcares fermentáveis. Sendo que a cevada é o principal cereal maltado utilizado para a fabricação de cerveja (PASSARELLI, 2008).

O processo de malteação de cereais acontece em quatro etapas: a primeira, chamada maceração, consiste na imersão da cevada em água por pelo menos dois dias; a segunda etapa é a germinação, nesse processo, toda a água é drenada e os grãos acondicionados, em uma sala de malteação, com temperatura e umidade controladas por cerca de 3 a 4 dias, nesta etapa, as enzimas serão produzidas e serão responsáveis por converter o amido em açúcares fermentescíveis; a terceira, é a secagem, onde a germinação é interrompida através do calor; e a quarta etapa é a torrefação, nesse momento que se decidirá os diferentes tipos de maltes que serão produzidos (PASSARELLI, 2008).

### 4.3 LÚPULO

O Lúpulo, nome científico *Humulus lupulus*, é uma planta da família das canabináceas, assim como a maconha, porém não contém substância alucinógena e apresenta flores masculinas e femininas da qual contém a lupulina, que é a substância utilizada no processo de fabricação de cerveja (CÂMARA, 2013).

A parte feminina da planta, flores e frutos, é a qual possui interesse industrial, pois são ricas em glândulas amarelas que contêm óleos essenciais e resinas de lupulina, responsável pelo aroma e amargor característico do lúpulo nas cervejas (AQUARONE *et al.*, 2001).

### 4.4 FERMENTO

A Levedura cervejeira são microrganismos unicelulares do Reino Fungi, pertence ao gênero *Saccharomyces*, cujas espécies mais comuns na produção de cerveja são a *Saccharomyces cerevisiae* e a *Saccharomyces uvarum* (AQUARONE *et al.*, 2001).

As leveduras são responsáveis pela transformação dos açúcares fermentescíveis presentes no mosto cervejeiro, em álcool, dióxido de carbono, ésteres e entre outras substâncias responsáveis pela característica da cerveja (BOTTO, 2009).

Nas cervejarias é feita uma classificação das leveduras, baseada no comportamento que ela apresenta durante o processo de fermentação, podendo ser consideradas leveduras de alta fermentação, que produzem as Ales que fermentam com temperatura entre 17 a 24 °C e as Lagers, fermentadas em temperaturas mais baixas entre 9 e 14 °C (BODEN, 2009).

## 5 PROCESSOS

### 5.1 PROCESSO INDUSTRIAL

O processo industrial se inicia com a cevada que passa por um processo de malteação, e após obter o malte de cevada, este passa por moagem até se obter uma granulometria ideal, sem que transforme o malte em farinha, e após a moagem, o malte é transportado para um tanque com agitador, onde se inicia o processo de cozimento e brassagem, e então, o mosto segue para o tanque de clarificação, onde o bagaço do malte, presente no mosto, servirá como camada filtrante, possibilitando assim a clarificação do mosto (CARNEIRO, 2012).

Concluída a etapa, o mosto clarificado segue para o tanque de brassagem, onde se inicia a fervura e são adicionados os lúpulos de amargor e aroma, após uma hora de fervura, transfere-se este mosto para o tanque whirlpool, onde ficará por repouso para decantação de resíduos sólidos de lúpulo e proteínas chamado de Trub. Após o resfriamento do mosto por trocadores de calor, é encaminhado para os tanques de fermentação que será adicionado a quantidade de fermento vitalizado proporcional para o volume de mosto, dando início ao processo de fermentação (CARNEIRO, 2012).

Após a fermentação, todo o fermento decantado do tanque é retirado e então aberto o frio do tanque, onde a temperatura fica em torno de 5°C, de acordo com o estilo de cerveja, esta etapa é chamada maturação e ao final desta etapa, obtem-se a cerveja maturada, como assim é chamada, que segue para a filtração, produzindo assim o chopp, que após a pasteurização e envase, resulta no produto final, a cerveja (CARNEIRO, 2012).

Este processo está ilustrado na figura 5.

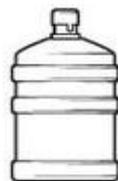


Figura 5 - Processo industrial de fabricação da cerveja (CARNEIRO, 2012)

## 5.2 PROCESSO ARTESANAL

Diversos produtos podem ser utilizados na produção artesanal de cerveja, a figura 6 apresenta os ingredientes para a produção de cerveja artesanal.

### INGREDIENTES\*



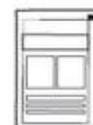
20 litros de água



2 kg de malte Pale Ale e 0,5 kg de malte Munich



30 g de lúpulo Centennial



levedura Fermentis S-04

Figura 6 - Ingredientes para cerveja artesanal (TELLES, 2014)

Para uma receita de 20 litros, são utilizados em média de 2 a 3 quilos de malte, 30 gramas de lúpulo e um sachê de fermento com 11 gramas (TELLES, 2014).

Os principais equipamentos utilizados na fabricação artesanal estão listados na figura 7.



**Figura 7 - Equipamentos para cerveja artesanal (TELLES, 2014)**

A figura 8 mostra o fluxograma do processo artesanal.

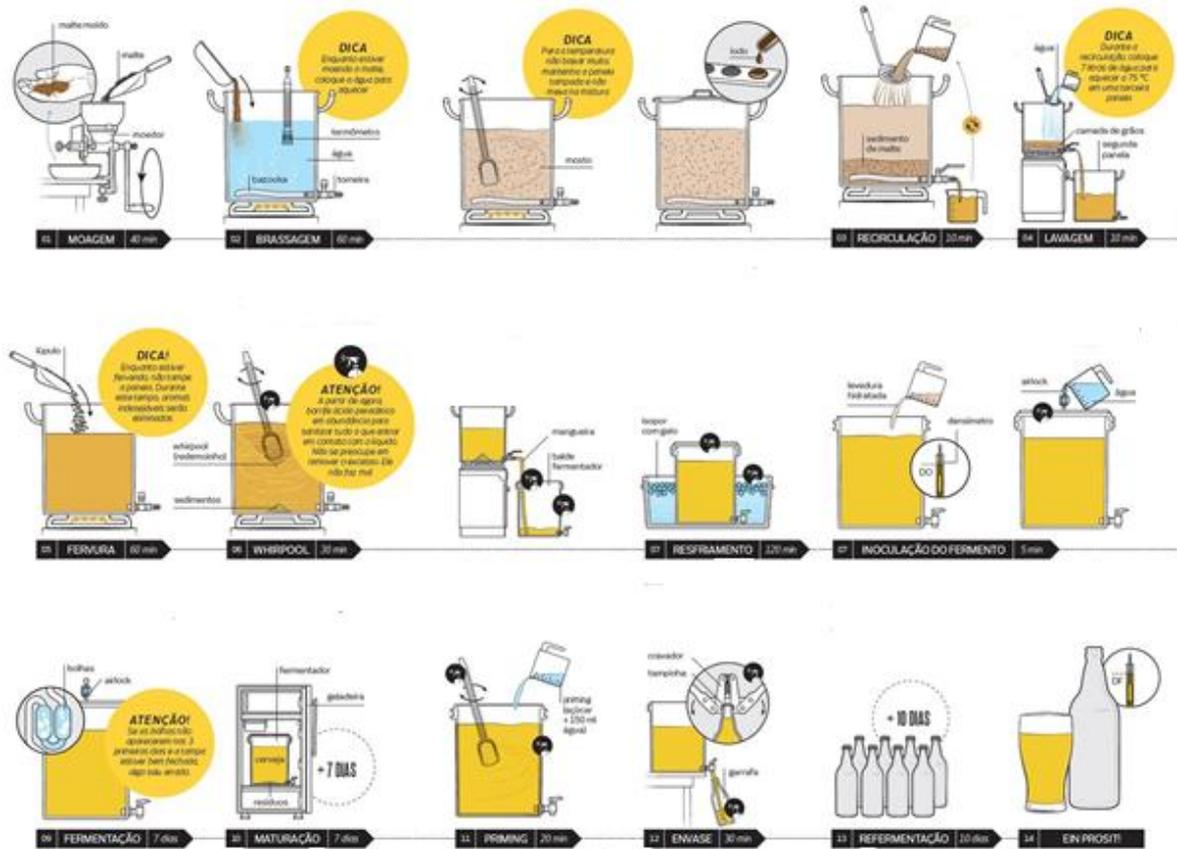


Figura 8 - Processo de fabricação artesanal (TELLES, 2014)

A produção de cerveja artesanal começa pela moagem do malte, que deve apenas expor o miolo do grão de malte, sem que o transforme em farinha, além de que a casca do malte servirá adiante como filtro para o mosto. Aquece-se então, 7,5 litros de água, a 70 °C e despeja-se o malte moído, isso fará a temperatura da água cair para 66°C, e assim permanecer cozinhando por uma hora nesta temperatura e mexendo a mistura algumas vezes (TELLES, 2014).

Após este tempo, deve-se fazer o teste com algumas gotas do mosto com solução de iodo, se apresentar cor marrom, é porque já converteu os amidos em açúcares, se apresentar cor azul ou preta, é necessário pelo menos mais uns 15 minutos de brasagem e fazer novo teste até que se obtenha o resultado esperado. E então, começar a etapa de recirculação do mosto para que se obtenha um mosto mais clarificado e límpido. Nesta etapa, adiciona-se aos poucos, cerca de mais 7,5 litros de água previamente aquecidas a 70°C, auxiliando na lavagem do malte (TELLES, 2014).

Terminada a clarificação do mosto, inicia-se a fervura, por aproximadamente 60 minutos. A partir do início da fervura, após 15 minutos, adiciona-se o lúpulo de amargor, e com 55 minutos de fervura, o lúpulo de aroma, ao término dos 60 minutos, deve-se fazer um redemoinho no mosto e deixar repousar por 2 minutos, assim o material em suspensão irá decantar para o fundo da panela (SANGION, BELTRAMELLI, 2007).

Após os 2 minutos, colocar a panela em uma bacia com gelo para que troque calor e resfrie o mosto até atingir temperatura de aproximadamente 30°C. Devidamente resfriado, deve-se transferir o mosto para um balde fermentador de modo a aerar o mosto e adicionar a levedura, lacrar o balde e encaixar o airlock que servirá para escape do dióxido de carbono gerado na fermentação sem que ocorra entrada de ar, garantindo assim uma fermentação anaeróbica, que seguirá por 7 dias (TELLES, 2014).

Após os 7 dias de fermentação, transferir a cerveja para um balde maturador, tomando cuidado para não transferir o fermento, e seguir a maturação por mais 7 dias a temperatura próxima de 5°C. Ao final da maturação, é adicionado o primming para que ocorra a carbonatação da cerveja após o envase, e seguir o processo de envase e tampar as garrafas com o auxílio do arrolhador. Essas deverão descansar em geladeira por mais 10 dias, para que ocorra a refermentação do primming, carbonatando a cerveja. E então, estará pronta para o consumo (TELLES, 2014).

## 6 CONTAMINAÇÃO DURANTE O PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE CERVEJA

### 6.1 CONTAMINANTES

É considerada levedura selvagem qualquer levedura que esteja presente na fermentação, diferente da levedura de cultivo, utilizada na fabricação da cerveja. Estas leveduras podem ter origem de diversas fontes e 80% das leveduras selvagens são do gênero *Saccharomyces diastaticus*, que ataca a cerveja envasada, que não passou por pasteurização, por exemplo, o chopp, como resultado desta fermentação contaminada, produz turbidez, mudança de cor, sabor desagradável e fenólico. Linhagens de levedura *Saccharomyces cerevisiae* respiratórias podem se desenvolver em conjunto com a cultura industrial e produzirem, na cerveja, sabores e odores anormais, como por exemplo, diacetil, que dá um gosto de manteiga rançosa à cerveja (OLIVEIRA, 2011).

### 6.2 TRATAMENTO

Para se obter a cerveja final de qualidade, deve-se submetê-la a tratamentos, como a filtração e pasteurização, desta forma, o produto acabado estará livre de resíduos de leveduras, bactérias e coliformes que possam ter contaminado durante o envase. Este processo é de extrema importância, visto que esses micro-organismos são prejudiciais tanto para as características organolépticas do produto como também à saúde do consumidor, por apresentar toxinas prejudiciais ao organismo (CARNEIRO, 2008).

A cerveja, quando finalizada, deve ser tratada para eliminar qualquer resíduo de levedura ou infecções causadas por leveduras selvagens e/ou bactérias antes ou durante o envase. Esse tratamento pode ser realizado por dois meios: a pasteurização ou a filtração (CARNEIRO, 2008).

A pasteurização pode ser realizada por meio do flash pasteurização ou por túnel de pasteurização, já a filtração consiste na remoção dos micro-organismos presentes na cerveja maturada, através da passagem desta por um filtro com membrana de polipropileno ou politetrafluoroetileno com poros entre 0,45 e 0,8 nm (CARNEIRO, 2008).

## 7 PARÂMETROS PARA GARANTIA DA QUALIDADE DA CERVEJA

Para garantir a qualidade da cerveja produzida são necessárias análises microbiológicas e físico-químicas.

### 7.1 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA é o órgão responsável por registrar e fiscalizar bebidas alcoólicas e não alcoólicas, no que diz respeito à qualidade na elaboração e industrialização desses produtos, que devem ser atestados para que não ofereçam riscos à saúde humana. As matérias-primas inadequadas para consumo devem ser isoladas durante os processos produtivos para evitar contaminação química, física ou microbiológica (BRASIL, 2009).

A legislação para parâmetros microbiológicos para bebidas segue a Lei nº 8918/94 e o Decreto nº 6871 de 14 de junho de 2009 – MAPA. De acordo com o artigo 78 desse decreto, as bebidas devem atender aos seguintes requisitos de identidade e qualidade (BRASIL, 2009):

- I- Normalidade dos caracteres sensoriais próprios de sua natureza ou composição;
- II- Qualidade e quantidade dos componentes próprios da sua natureza ou composição;
- III- Ausência de componentes estranhos, de alterações e de deteriorações;
- IV- Limites de substâncias e de micro-organismos nocivos à saúde, previstos neste Regulamento e em legislação específicas; e
- V- Conformidade com os padrões de identidade e qualidade.

Parágrafo único: Será considerada imprópria para o consumo e impedida de comercialização a bebida que não atender ao disposto neste artigo.

Em relação ao artigo 78, inciso IV, o regulamento e legislação específicos seguem em conformidade com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, com a

consolidação da CP nº 69, 13 junho de 2010, que estabelece os parâmetros microbiológicos para cervejas, descritas na tabela 1.

<b>Parâmetros</b>	<b>LIMITES</b>
Contagem padrão aeróbicos	< 3000 UFC / mL
Bolores	< 100 UFC / mL
Leveduras	< 100 UFC / mL

**Tabela 1 – Parâmetros microbiológicos para cervejas (In: ANVISA, 2010)**

Os níveis de coliformes devem ser indetectáveis na água, no malte, adjuntos, barris e filtrantes, em 100 mL de água. (FARIA *et. al*, 2009).

## 7.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

O controle de qualidade de uma cervejaria é fundamental, no laboratório são feitas análises das matérias-primas, dos produtos em processo e da bebida finalizada e suas características.

No mosto são realizadas as análises de gravidade específica, do pH, de acidez total, dos açúcares redutores, dos aminoácidos livres, de proteína, de amido, viscosidade e cor (OETTERER, 2013).

No controle da cerveja em processamento, são analisados os parâmetros de gravidade específica, grau de fermentação, pH, acidez total, açúcar fermentescível, aminoácidos livres, proteína, cor, oxigênio dissolvido e bactérias contaminantes (OETTERER, 2013).

Para o controle de qualidade da cerveja finalizada são analisados: teor alcoólico, gravidade específica (densidade específica), extrato original, extrato final, grau de

fermentação, flavour, estabilidade do flavour, estabilidade de espuma, oxigênio dissolvido, proteínas, amido, iso  $\alpha$  ácidos, bactérias contaminantes, pH, diacetil, SO<sub>2</sub>, Cobre, Sódio, oxalato cálcio, turbidez e CO<sub>2</sub> (OETTERER, 2013).

Segundo ANVISA (2010), as águas com maior teor de carbonato de cálcio estão relacionadas às cervejas mais escuras e adocicadas. Já a cerveja pilsen necessita de água mole, ou seja, com baixo teor de carbonato de cálcio, assim há importância do controle de dureza cálcica nas águas cervejeiras nas indústrias.

Segundo a legislação brasileira, para parâmetros físico-químicos relacionados à cor das cervejas finalizadas, são classificadas como claras, quando apresentarem valores menores que 20 EBC (European Brewery Convention); ou escuras, com valores maiores que 20 EBC (ANVISA, 2010).

No malte, os aromas e flavours desejáveis são os produtos voláteis de Maillard como o maltol e dimetil-sulfureto. No lúpulo, são as iso-humulonas, os óleos essenciais e produtos de oxidação como o linalol. No produto fermentado, o etanol, ésteres como o etil acetato e ácidos orgânicos como o ácido acético (OETTERER, 2013).

Os parâmetros segundo as legislações, das análises realizadas neste trabalho, são apresentados na tabela 2.

ANÁLISE	PARÂMETRO
Cor, Turbidez*	<20 EBC - clara >20 EBC - escura
pH *	4,0 a 4,2
Proteína **	0,25 a 0,37 %
Dureza Cálcica *	35 a 40 ppm e a 150 ppm
Densidade específica *	1,007 a 1,022 g/cm <sup>3</sup>

\*ANVISA (2010)

\*\* AQUARONE *et al.* (2001)

**Tabela 2 - Parâmetros físico-químicos para a cerveja (In: ANVISA, 2010 e AQUARONE *et al.* 2001)**

## 8 ENSINO MÉDIO

O uso de experimentos no ensino de Ciências, já era reconhecido desde o século XVIII, por filósofos. O termo alquimia era relacionado à prática, na Idade Média. Os alquimistas tentavam acelerar esse processo em laboratório, por meio de experimentos com fogo, água, terra e ar (OLIVEIRA, *et al.*, 2006).

O ensino da química apresenta em suas teorias uma vasta infinidade de nomes, fórmulas, reações e propriedades, por isso há muita falta de interesse por parte dos alunos nesse ensino, devido às dificuldades que encontram em compreender e assimilar com o cotidiano. Por isso é importante as aulas experimentais, para despertar o interesse, ajudar e facilitar a compreensão dos conceitos teóricos estudados em sala, não ficando estes apenas no processo de decorar (ROCHA; BEZERRA, 2013).

A ciência da Química se relaciona com a natureza, por isso a importância de introduzir atividades experimentais aos alunos, pois essa ciência se relaciona com a natureza, sendo assim, os experimentos propiciam ao estudante uma compreensão mais científica das transformações que nela ocorrem. Por isso é de extrema importância que a teoria e a prática sejam ministradas, pois uma depende da outra, para melhor compreensão de conceitos químicos (ROCHA; BEZERRA, 2013).

Para que essas práticas ocorram, é necessária a motivação do professor, em preparar essas aulas, buscar experimentos relacionados com a teoria para ser aplicados aos alunos. Sabe-se que o papel do professor é envolver o aluno, despertar sua curiosidade para entender e aprender o que está sendo ministrado na sala de aula. Já que o ensino da química é tão complexo, há essa necessidade de assimilá-lo com a prática e contextos do cotidiano para facilitar o entendimento (OLIVEIRA, *et al.*, 2006).

Porém, a dificuldade de relacionar a teoria aos experimentos, muitas das vezes esta relacionada à falta de conhecimento do professor em não saber administrar uma aula prática, visto que não aprendeu a conduzir esse tipo de atividade na

Universidade, com isso apresenta insegurança ao desempenhar essa tarefa. Ou também, pela falta de incentivo por parte da escola que impõe algumas barreiras, e até mesmo, o excesso de matérias para passar em um curto período de tempo, não tendo tempo para realizar experimentos, pois necessitam seguir o cronograma das aulas (MEDEIROS *et al.*, 2013).

Outro problema que o professor encontra é a dificuldades em relacionar a teoria com a prática devido às escolas não estarem preparadas para oferecer um ensino prático experimental, por falta de laboratórios, equipamentos e recursos materiais, fazendo assim o aluno ser apenas um memorizador de fórmulas e elementos (OLIVEIRA, *et al.*, 2006).

Como a maioria das instituições estaduais da rede pública de ensino não dispõe de um laboratório, onde possam ser realizadas experiências mais complexas, a importância dos professores em aplicarem experimentos simples em sala de aula, com a utilização de materiais alternativos e de baixo custo (ROCHA; BEZERRA, 2013). Pois, como mencionado acima, essas práticas irão despertar o interesse do aluno por essa ciência, como também tornarão as aulas mais significativas para o estudante, facilitando a aprendizagem e tornando as aulas de química mais agradáveis e dinâmicas para os alunos (MEDEIROS *et al.*, 2013).

Tendo em vista a importância de experimentos no processo de aprendizagem da Química, este trabalho tem como objetivo propor uma atividade metodológica que tem como enfoque uma experiência simples, que não precisa de recursos complexos de laboratório.

Para tanto, uma técnica simples para explicar aos alunos do ensino médio sobre o processo de fermentação, consiste em observar e analisar a reação do *Saccharomyces cerevisiae* sob diferentes condições, pois se trata de um fungo unicelular, conhecido popularmente como fermento biológico muito utilizado na produção de pães, bolos e pizzas.

## 8.1 AULA EXPERIMENTAL PARA ENSINO MÉDIO

Essa atividade possibilitará aos alunos se familiarizarem com o cotidiano, já que a fermentação é um processo que está presente no dia-a-dia deles, porém quando esse processo é explicado na teoria, torna-se mais complexo, por isso a importância da prática.

A fermentação é um processo de liberação de energia que ocorre sem a participação do oxigênio, ou seja, é um processo anaeróbico. Compreende um conjunto de reações enzimaticamente controladas, através das quais uma molécula orgânica é degradada em compostos mais simples, liberando energia. Sendo a glicose uma das substâncias mais empregadas pelos micro-organismos como ponto de partida na fermentação (SILVA, 2013).

O experimento consiste em pegar três tubos, contendo em cada um respectivamente água fria e açúcar, água quente e açúcar e água com sal. Além disso, é preciso colocar na superfície de cada tubo, uma bexiga. Em seguida, observar com os alunos qual tubo irá fazer a bexiga encher e em qual isso ocorrerá mais rápido.

Após observarem, o professor poderá explicar aos alunos que os tubos que continham água e açúcar a bexiga encheu, pois é produto da fermentação alcoólica (sem a participação do gás oxigênio), onde o açúcar (glicose) é a molécula matéria-prima que foi quebrada (gerando calor e energia) e transformada em álcool (etanol) e gás carbônico. Já no tubo que continha água com sal, a bexiga não encheu, pois não continha a matéria-prima para a fermentação alcoólica do fungo, conseqüentemente não há liberação de gás carbônico (gás que encheu as bexigas) e do etanol (AZEVEDO, 2009).

E entre os dois tubos que continham açúcar, o que encheu mais rápido foi com água quente, com isso o professor poderá explicar que existem temperaturas ideais para que as reações químicas (o funcionamento das enzimas) ocorram com maior eficiência, como foi observado no caso da temperatura elevada, que possibilitou maior eficiência para os fungos *Saccharomyces cerevisiae*, enchendo a bexiga num tempo menor em relação ao tubo contendo água fria (AZEVEDO, 2009).

No roteiro dessa experiência, temos como sugestão o plano de aula, para auxiliar o professor a ministrar essa didática. Sendo que, contém, nesse roteiro, todas as orientações necessárias para o desenvolvimento da aula prática e também algumas questões que auxiliarão no fechamento da atividade.

### **8.1.2 Roteiro**

O roteiro consiste de uma aula experimental sobre o estudo da fermentação anaeróbica. Ele contém todas as orientações necessárias para o desenvolvimento da aula prática, que pode auxiliar e ajudar o professor no conteúdo deste contexto.

#### **8.1.2.1 Objetivo**

Observar e analisar a reação de fermentação anaeróbica do *Saccharomyces cerevisiae* (um fungo unicelular muito utilizado na produção de pães, bolos, pizzas, conhecido popularmente como fermento biológico), sob diferentes condições.

#### **8.1.2.2 Materiais**

- 3 tubos de ensaio, podendo ser substituído por garrafa PET de tamanho pequeno;
- 3 bexigas;
- 50g de açúcar;
- 25g de sal;
- água destilada, podendo ser substituída por água mineral.

### 8.1.2.3 Procedimento

Pegar três tubos de ensaio e adicionar em dois desses 25g de açúcar em cada e no terceiro, adicionar 25 g de sal. Acrescentar em cada tubo 50 mL água destilada e agitar para completa dissolução. Em seguida, colocar uma bexiga na superfície de cada tubo e observar juntamente com os alunos o que acontece com as bexigas quando colocadas nos tubos.

### 8.1.2.4 Questões

1. O que explica o fato das bexigas que estavam no tubo com sal não ter enchido?
2. Por que a bexiga do tubo que continha água quente e açúcar encheu mais rápido?
3. Por que a água quente acelerou o processo de fermentação?

## **9 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **9.1 MATERIAL**

#### **9.1.1 Cerveja**

Neste trabalho foram utilizadas garrafas de 300 mL e 500 mL de cervejas industriais mais consumidas do mercado, as de tipos especiais e artesanais. As cervejas analisadas foram as comercializadas na região de Cândido Mota – SP e de Assis – SP. Após a coleta, as amostras foram encaminhadas ao laboratório Centro de Pesquisa e Ciências – CEPECI, onde foram efetuadas as análises microbiológicas. No mesmo dia da coleta, as amostras foram inoculadas para que não ocorresse risco de contaminação ou invalidação do material coletado. Para as análises Físico-químicas, as amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Química da Fundação Educacional do Município de Assis – FEMA.

#### **9.1.2 Equipamentos**

- Fluxo laminar (TROX TECHNIK);
- Estufas de 37°C (MARCONI – MA 032), de 32°C (FANEM - MODELO 315 SE) e de 25°C (MARCONI 032);
- Balança analítica (RADWAG - WTB 3000);
- Banho-maria a 44,5°C (QUIMIS – Q – 3042105);
- Autoclave (CEIME - PHOENIX);
- Agitador magnético (FISATAM - MODELO 702);
- Bico de Bunsen;
- pHmetro (TECNOPON – MODELO Mpa – 210);

- Turbidímetro (TURBIDIMETER 2100N);
- Espectrofotômetro (FEMTO – 600S);
- Destilador de nitrogênio (TECNAL – TE-0363);
- Densímetro de massa específica (FERMENTAP – MODELO MT-300);
- Chapa de aquecimento (TECNAL TE-0181);
- Contador de células (Phoenix CP 600 Plus).

### **9.1.3 Meios de cultura**

Os meios de cultivo utilizados neste trabalho foram preparados de acordo com as instruções da embalagem. Todos os meios foram esterilizados em autoclave por 15 minutos, a 120°C. As pipetas e as placas de Petri utilizadas nas análises foram esterilizadas também em estufa, a 180°C, por uma hora. Sendo os meios descritos abaixo.

- Caldo Lauril – Sulfato/Triptose – marca: Acumedia.
- Água Peptonada – marca: Becton, Dickinson and Company.
- Verde Brilhante – marca: Himedia.
- Caldo EC Medium – marca: Acumedia.
- Standard Methods Agar – PCA – marca: Himedia.
- Agar Batata Dextrose – ABG – marca: Himedia.

### **9.1.4 Reagentes**

- Hidróxido de sódio 0,5 N;
- Hidróxido de sódio 50%;
- Indicador Calconcarboxílico;

- EDTA 0,01N;
- Mistura catalítica;
- Ácido Sulfúrico p.a;
- Ácido Bórico 4%;
- Ácido clorídrico 0,1N;

### 9.1.5 Reagentes preparados

- NaOH 0,5 N: Pesou-se 20 g de hidróxido de sódio e transferiu-se para um balão de 1L, completou o balão com água destilada e homogeneizou-se.

- NaOH 50%: Pesou-se 200 g de hidróxido de sódio e transferiu-se para um balão de 200 mL, completou o balão com água destilada e homogeneizou-se.

- Indicador Calconcarboxílico: triturou-se em almofariz 0,05 g de indicador com 25 g de NaCl (seco em estufa 105°C por pelo menos 5 horas). Para um almofariz, transferiu-se o indicador e uma pequena porção do NaCl e moeu bem. Foi adicionando o NaCl aos poucos e moendo, até misturar o indicador com todo o NaCl. Transferiu-se para um frasco e tampou bem.

- EDTA 0,01N: Pesou-se 7,46g de EDTA estoque 0,1 M e transferiu-se para um balão de 200 mL e completou-o com água destilada. Retirou-se uma alíquota de 100 mL de EDTA 0,1 M e transferiu-se esta alíquota para um balão de 1 L e completou com água destilada.

Padronização: transferiu-se 50 mL de água para um erlenmeyer de 250 mL, adicionou-se 10 mL de solução tampão e 0,05 g do indicador Eriocromo preto T., adicionou-se 20 mL de solução padrão de cálcio e titulou-se com a solução de EDTA

até viragem de púrpura à azul. Ajustou esta solução EDTA de maneira a que 1 mL corresponda a 1 mg de  $\text{CaCO}_3$ .

- Mistura catalítica: Pesou-se 1 g de  $\text{CuSO}_4$  para 9 g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e misturou-se.

- Ácido Bórico 4%: Pesou-se 20 g e transferiu-se para um balão de 500 mL e completou o volume com água.

- Ácido clorídrico 0,1N: Diluiu-se 8,5 mL de ácido clorídrico concentrado e transferiu-se para um balão de 1 L, contendo 200 mL de água destilada. Logo após, completou o volume do balão com água destilada.

Padronização: esta solução foi padronizada usando padrão de carbonato de sódio 0,1 N. Misturou-se 25 mL dessa solução padrão com indicador alaranjado de metila e titulou-se com solução de ácido clorídrico, até o ponto de viragem levemente vermelho. Sendo o valor do fator de correção de 1,032.

## 9.2 MÉTODOS

Para as análises microbiológicas foram utilizados os métodos segundo SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA (2001). As análises físico-químicas seguiram os métodos do Instituto Adolfo Lutz (1985).

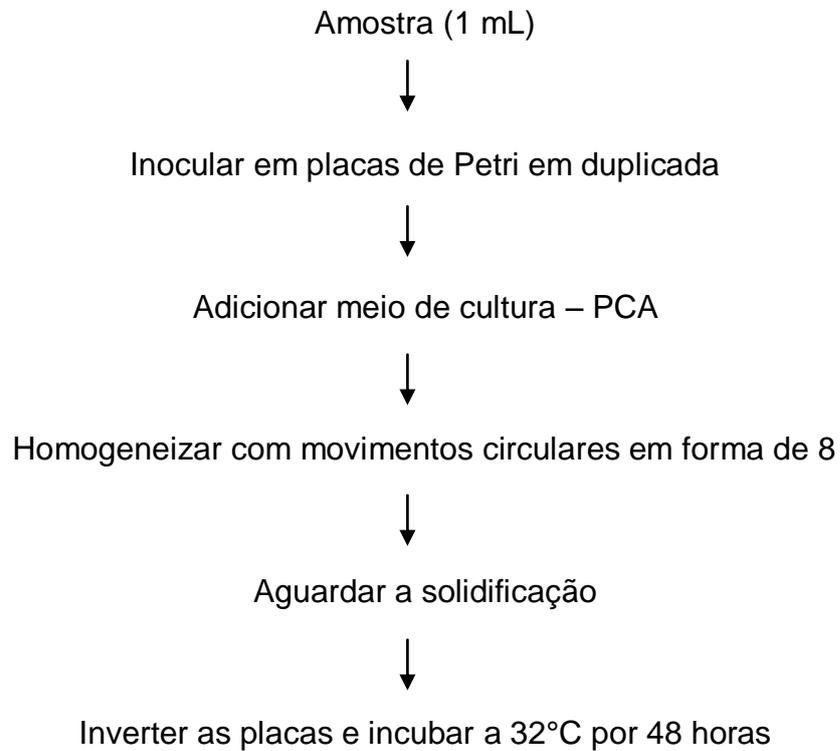
### 9.2.1 Coliformes Totais e Termotolerantes

A figura 9 apresenta o fluxograma para análise de Coliformes Totais e Termotolerantes.



### 9.2.2 Contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas (PCA)

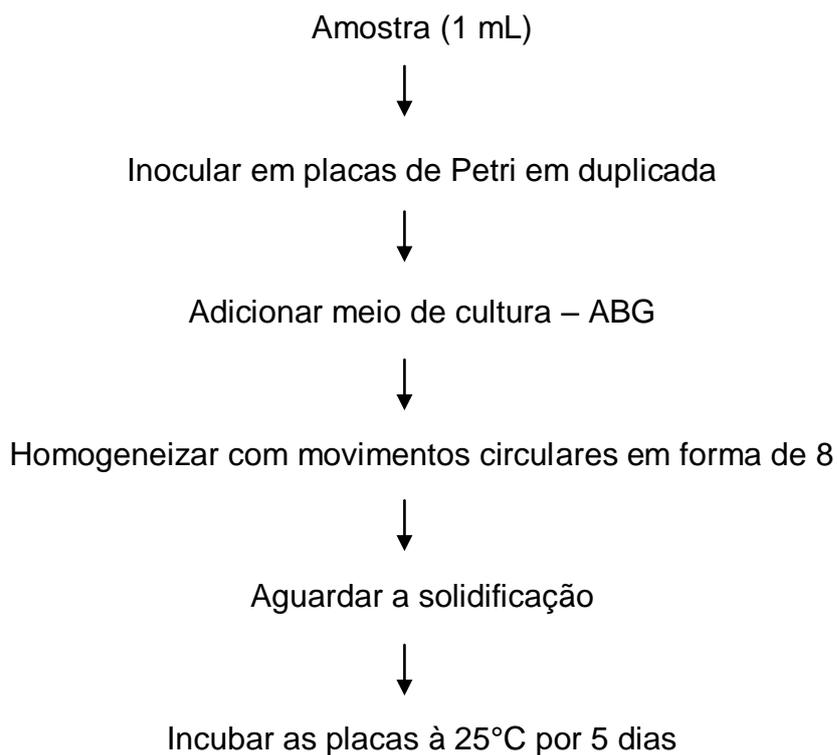
A figura 10 apresenta a metodologia para contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas.



**Figura 10 - Sequência de análise para contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas (PCA)**

### 9.2.3 Bolores e Leveduras

A figura 11 mostra a sequência para análise de Bolores e Leveduras.



**Figura 11 - Sequência de análise para contagem de bolores e de leveduras**

O crescimento de bolores apresenta colônias que formam micélio, que é uma grande quantidade de hifas, dando aspecto de aveludado ou de algodão. Já o crescimento de leveduras é característico de colônias esféricas, de aspecto liso. (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1996).

#### **9.2.4 Determinação de densidade a 15° C**

Transferiu-se, para uma proveta de 250 mL, uma quantidade da amostra previamente homogeneizada e resfriada que permitiu introduzir o densímetro, sendo a temperatura de 10°C a 20°C. Introduziu o densímetro lentamente, evitando mergulhá-lo além do ponto de afloramento e tendo o cuidado de não encostá-lo nas paredes da proveta. Fez a leitura ao nível da cerveja, no menisco superior. Levantou um pouco o densímetro e enxugou a haste com papel absorvente, de cima para baixo. Mergulhou novamente o densímetro até próximo do traço anteriormente observado. Esperou que a coluna de mercúrio do termômetro e o densímetro se

estabilizassem. Procedeu-se a leitura da densidade e da temperatura. Expressou a densidade a 15°C, utilizando uma tabela para correção da densidade, a partir da temperatura. Os valores dos graus densimétricos correspondem a 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> casas decimais do valor da densidade. Para obtenção do valor da densidade corrigida a 15°C, bastou colocar 1 a esquerda do valor do grau densimétrico obtido.

Para efeito de resultado os valores de densidade que não estiverem contidos, fazer a correção da leitura acrescentando 0,0002 para cada grau acima de 15°C ou diminuindo 0,0002 para cada grau abaixo de 15°C.

### **9.2.5 Determinação do pH**

Calibrou-se o pHmetro com soluções tampão pH 4,0 e 7,0. Após, adicionou-se 50 mL da amostra de cerveja, previamente homogeneizada e descarbonatada, em um bécker de 100 mL. Inseriu o eletrodo do aparelho na amostra e esperou estabilizar o resultado do valor de pH.

### **9.2.6 Proteína – Método Nitrogênio de Kjeldahl**

Pesou-se de 0,3 a 0,8 g de amostra homogeneizada e transferiu para um tubo de ensaio, juntou-se 1,5 g de mistura catalítica e 10 mL de ácido sulfúrico concentrado.

Aqueceu no digestor, por aproximadamente 3 horas, até que o líquido apresentasse um aspecto límpido (cor verde). Retirou do aquecimento, deixou esfriar e transferiu para o tubo de digestão de Kjeldahl, lavando o tubo de ensaio com 30 mL de água destilada, para retirada dos resíduos e levou ao destilador de nitrogênio. Adicionou ao destilador lentamente cerca de 30 mL de hidróxido de sódio 50%, até a viragem de coloração da amostra (escuro), aumentou a temperatura, entre 8 a 9 e recolheu 150 mL do destilado em um erlenmeyer, contendo 35 mL de ácido bórico 4%. Em seguida, titulou a amostra com HCl (padronizado) e anotou o volume gasto.

Para efeito de cálculo seguiu a seguinte equação:

$$\% P = \frac{0,875 \times \text{fator HCl} \times \text{mL gasto}}{\text{Peso da amostra}}$$

### 9.2.7 Dureza Cálcica Total

Adicionou-se 50 mL da amostra em um erlenmeyer, colocou-se 2 mL de NaOH 0,5 N e 5 gotas de indicador Calconcarboxílico., sob agitação magnética. Titulou-se com solução EDTA 0,01N até mudança de coloração para azul intenso.

Efetou-se o cálculo a partir do valor de titulação multiplicado por 20, obtendo o resultado em ppm.

### 9.2.8 Turbidez

Ligou-se o turbidímetro e deixou esquentar por pelo menos 30 minutos. Para calibração apertou a tecla CAL e colocou as seguintes cubetas:

- cubeta de 0 NTU, apertou ENTER e aguardou 60s;
- cubeta de 0-20 NTU, apertou ENTER e aguardou 60s;
- cubeta 0-200 NTU, apertou ENTER e aguardou 60s;
- cubeta da solução de 1000 NTU, apertou ENTER e aguardou 60s;
- cubeta 200-4000 NTU, apertou ENTER e aguardou 60s; sendo que nessa última, antes de retirar a cubeta, apertou a tecla CAL e aguardou a calibragem.

Após calibração, foi selecionado no aparelho a opção units, para que o resultado fosse expresso em EBC (European Brewing Convention), e então colocou a amostra em uma cubeta e efetuou a leitura apertando a tecla ENTER, sendo o resultado obtido em EBC.

### 9.2.9 Cor

Preparou uma solução 0,1%, p/v, em água e fez a leitura no espectrofotômetro a 610 nm, usando a água como branco. O resultado foi à absorbância multiplicada por 20, dividido por 0, 076.

## 10 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Cada amostra, das seis cervejas analisadas, receberam respectivamente as letras A, B, C, D, E e F. As amostras A e B são cervejas artesanais; a amostra C, cerveja especial da Áustria, do tipo Ale Hefe Weizenbier, as amostras D e E, cervejas industriais regionais e a F, cerveja especial nacional do tipo Lager.

As análises microbiológicas foram realizadas e inoculadas dentro do fluxo laminar, conforme a figura 12, para que não ocorresse risco de contaminação. Em seguida realizou-se as análises físico-químicas, sendo elas: densidade específica, cor, dureza cálcica, pH, turbidez e nitrogênio. Não foram realizados todos os parâmetros físico-químicos de controle de qualidade para cerveja, devido à falta de equipamentos específicos.



**Figura 12 - Fluxo laminar**

## 10.1 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

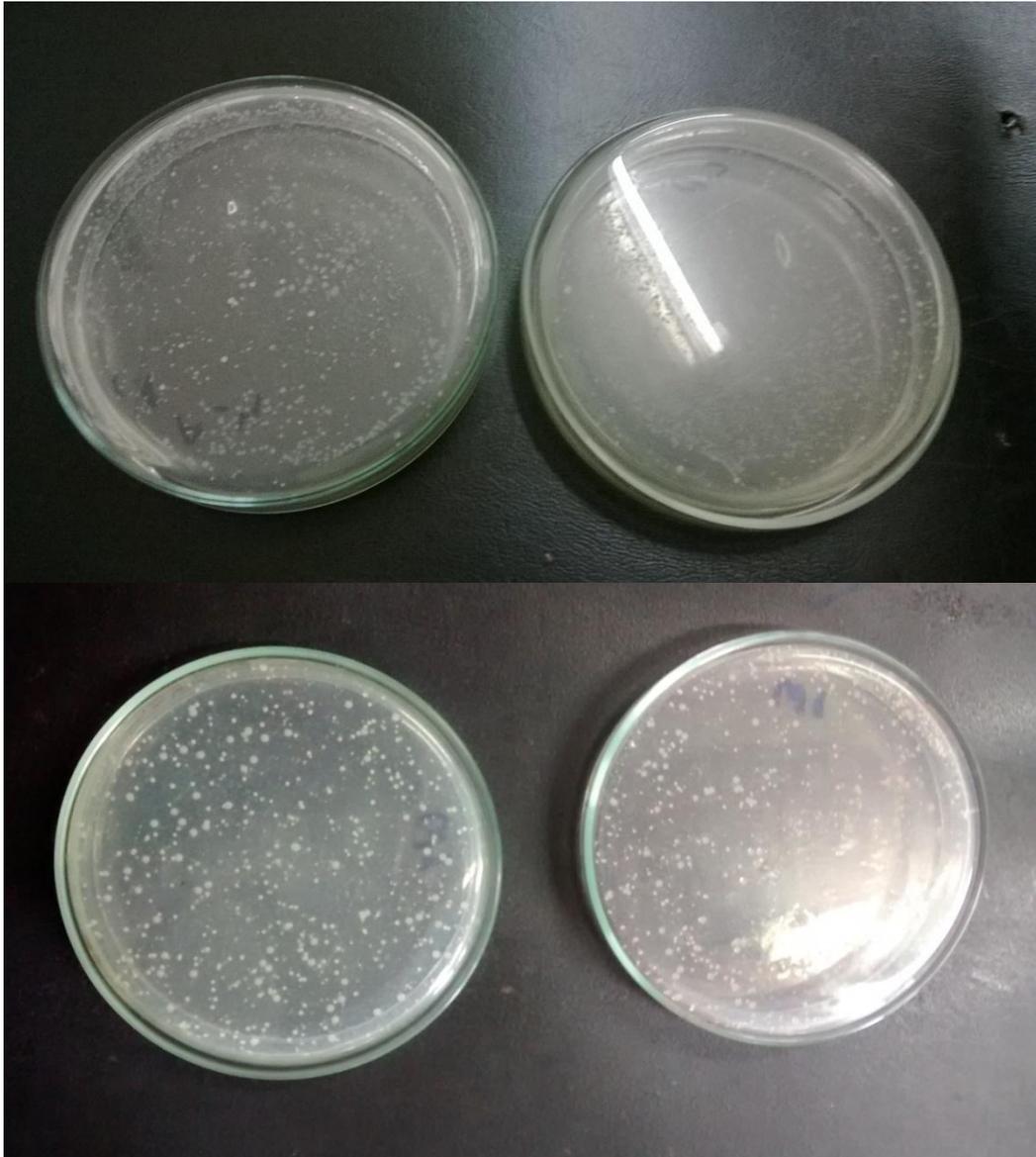
Os resultados obtidos em relação às análises de contagem padrão, coliformes totais, bolores e leveduras encontram-se na tabela 3. As discussões encontram-se nos tópicos a seguir.

AMOSTRAS	Contagem padrão UFC / mL	Coliformes totais NMP / 100 mL	Bolores UFC / mL	Leveduras UFC / mL
A	$4,2 \times 10^5$	ausente	ausente	$2,2 \times 10^6$
B	$5,6 \times 10^6$	ausente	ausente	$1,4 \times 10^7$
C	ausente	ausente	ausente	ausente
D	ausente	ausente	ausente	ausente
E	ausente	ausente	ausente	ausente
F	ausente	ausente	ausente	ausente
<b>PADRÃO</b>	<b>&lt; 3000</b>	<b>ausente</b>	<b>&lt; 100</b>	<b>&lt; 100</b>

**Tabela 3 - Resultados microbiológicos**

### 10.1.1 Resultados para contagem de bactérias aeróbias mesófilas

Com os resultados obtidos, mostrados na tabela 3, através da análise de contagem padrão, pôde-se observar que as amostras A e B apresentaram presença para bactérias mesófilas viáveis (Figura 13). As amostras foram diluídas ( $10^{-3}$ ) devido a grande proliferação de bactérias, impossibilitando a contagem na inoculação direta. As amostras C, D, E e F apresentaram ausência para esses tipos de micro-organismos.



**Figura 13 - Placas de Petri com cultura de bactérias mesófilas viáveis das amostras A e B em duplicata**

Segundo a legislação da ANVISA (2010), CP nº 69/2010, o limite máximo para contagem padrão para cerveja é de  $< 3000$  UFC/mL. Portanto, os valores encontrados neste trabalho para contagem padrão em relação às amostras A e B, encontram-se acima dos valores máximos permitidos por legislação, sendo impróprias para comercialização.

Porém, como as amostras A e B são amostras de cervejas artesanais, é comum a presença de micro-organismos, já que não passam pelo processo de pasteurização. Telles (2014) apresenta o fluxograma para o processo de fabricação de cerveja

artesanal (Figura 8), este processo confirma que não se faz uso da etapa de pasteurização para cervejas do tipo artesanal.

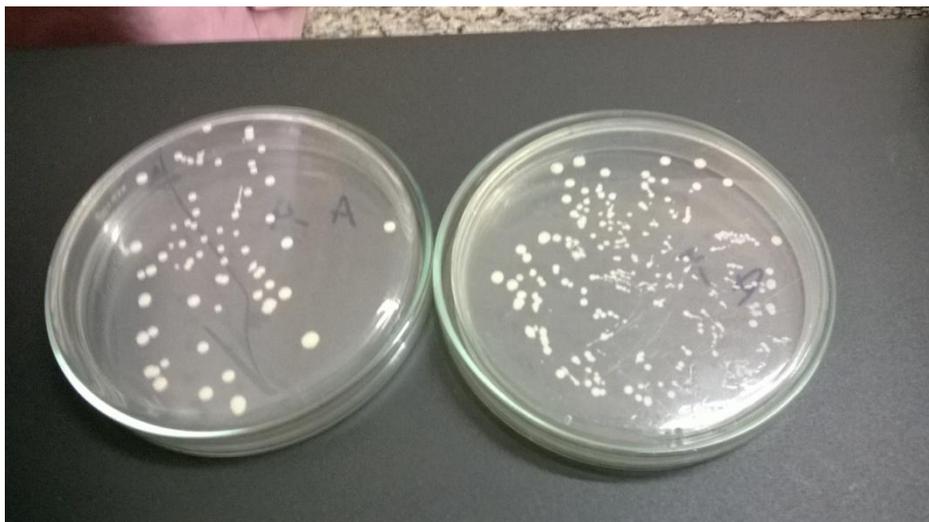
Carneiro (2008), afirma que para se obter uma cerveja de qualidade livre de resíduos de leveduras, bactérias e coliformes, deve-se submetê-la a tratamentos como a filtração e pasteurização, pois durante o envase pode ocorrer contaminação com micro-organismos. Este processo é de extrema importância, visto que esses micro-organismos podem ser patogênicos, prejudiciais tanto para as características organolépticas do produto como também à saúde do consumidor.

### **10.1.2 Resultados para coliformes totais**

Os resultados obtidos para coliformes totais, como mostrados na tabela 3, apresentaram ausência para esse tipo de micro-organismo. Segundo Farias (2009), os níveis de coliformes para cervejas devem ser indetectáveis na água, no malte, adjuntos, barris e filtrantes, em 100 mL de água. Portanto, os resultados obtidos em NMP/100 mL para as seis marcas de cervejas analisadas encontram-se dentro dos padrões.

### **10.1.3 Resultados para bolores e leveduras**

As seis marcas de cervejas analisadas apresentaram ausência para bolores. Em relação à presença de leveduras, apenas as amostras A e B apresentaram resultados positivos para esse fungo. Em virtude da grande proliferação de leveduras, impossibilitando a contagem na inoculação direta, foi realizada diluição a  $10^{-3}$  para a amostra A e  $10^{-4}$  para a amostra B. A figura 14 apresenta uma placa de uma dessas amostras com presença de leveduras.



**Figura 14 - Placas de Petri com cultura de leveduras das amostras A e B**

A legislação CP nº 69/2010 da ANVISA estabelece limite de valor para bolores e leveduras, menor que 100 UFC/mL. Desta forma, apenas as amostras A e B apresentaram resultados acima dos padrões para análise de leveduras.

As amostras A e B são cervejas artesanais do tipo Ale (alta fermentação), do estilo Hefe Weizenbier (cerveja de trigo), cujo estilo apresenta resíduo de fermento, depositado no fundo da garrafa, após envase. Desta forma, os resultados para levedura era esperado.

Porém a amostra C, que também é uma cerveja Ale do estilo Hefe Weizenbier, apesar de ter residual de fermento na garrafa, não apresentou crescimento de leveduras na análise, pois a mesma, por ser industrial, passa por um processo de pasteurização, inativando este micro-organismo.

## 10.2 RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS

Os resultados obtidos em relação às análises físico-químicas encontram-se na tabela 4. As discussões encontram-se nos tópicos a seguir.

AMOSTRA	Densidade g/cm <sup>3</sup>	pH	Proteína (%)	Dureza Cálcica (ppm)	Cor (EBC)	Turbidez (EBC)
A	1,010	4,30	0,61	24	11,570	19,300
B	1,020	4,40	0,52	36	25,260	111,000
C	1,111	4,12	0,58	46	15,000	28,700
D	1,009	4,23	0,27	26	5,780	1,180
E	1,009	4,23	0,17	28	6,310	0,480
F	1,029	3,4	0,33	0	15,260	56,600
<b>PADRÃO</b>	<b>1,007 a 1,022</b>	<b>4,0 a 4,2</b>	<b>0,25 a 0,37</b>	<b>35 a 150</b>	<b>&lt; 20 – clara &gt; 20 - escura</b>	

**Tabela 4 - Resultados das análises físico-químicas**

### 10.2.1 Densidade

Os resultados obtidos relacionados à densidade da cerveja, apenas as amostras C e F encontraram-se acima dos valores padrões estabelecidos pela ANVISA, pois os valores médios estipulados são de 1,007 a 1,022 g/cm<sup>3</sup>.

A amostra C, por ser uma cerveja importada, não atende aos parâmetros brasileiros, provavelmente segue os parâmetros do país de origem, pois se diferenciam pela origem das matérias-primas e processamento utilizado.

Segundo Aquarone *et al.* (2001), interferem na qualidade da cerveja: composição química da água, tipos de malte, proporção de malte/adjunto, variedade, quantidade, forma e pontos de adição de lúpulo etc.

Dessa forma, a amostra F apresentou valores acima dos padrões devido aos adjuntos utilizados, como por exemplo, o suco de limão, onde se tem o ácido cítrico que tem densidade de 1,665 g/cm<sup>3</sup>. Sendo que a diferença de valor em relação ao padrão para a amostra foi de 0,007 g/cm<sup>3</sup>, sendo esta diferença extremamente baixa.

### 10.2.2 pH

Das seis amostras analisadas apenas as amostras C, D e E encontraram-se dentro dos parâmetros estabelecidos pela CP nº 69/2010 – ANVISA, apresentando resultado abaixo do padrão, visto que os valores padrões para pH é de 4,0 a 4,2 para cerveja final.

As amostras A e B apresentaram um valor um pouco acima do padrão, pois segundo a ANVISA, esse valor relaciona-se à baixa produção de ácido carbônico resultante do dióxido de carbono, gerado pelo metabolismo do fermento na fermentação.

A amostra F apresentou um valor abaixo do padrão, pelo fato de conter suco de limão na composição final da cerveja, deixando o meio mais ácido.

### 10.2.3 Teor de proteínas

As proteínas de alto peso molecular, como a albumina e a globulina, compostas basicamente de nitrogênio coagulável, representam uma pequena parte do nitrogênio total do mosto e sua determinação e avaliação influenciam na qualidade da cerveja resultante em termos de corpo, espuma e estabilidade físico-química (ANJOS, 2010).

Segundo Aquarone *et al.* (2001), os valores em porcentagem para proteína na cerveja é de: mínimo 0,25 e máximo 0,37. De acordo com a tabela 4, apenas as amostras D e F encontram-se dentro destes valores.

Segundo a legislação CP nº 69/2010 - ANVISA, as proteínas presentes na cerveja são responsáveis pela formação de uma espuma mais estável, com textura mais cremosa, conferindo assim melhora dos atributos sensoriais e da qualidade da cerveja. Desta forma, a amostra E apresentou valor abaixo do padrão, concluindo-se que se trata de uma cerveja de espuma de baixa intensidade e corpo baixo de cerveja.

Já as amostras A, B e C, por se tratarem de cervejas do tipo Weizenbier, cujo 50% dos maltes utilizados é o de trigo, apresentam maior valor de proteína. De acordo

com a CP nº 69/2010 – ANVISA, o mosto é composto principalmente por malte obtido de cereais maltados de cevada e outros cereais, sendo rico em carboidratos e proteínas, transformados respectivamente em açúcares e aminoácidos pela ação de enzimas presentes no malte.

#### **10.2.4 Teor para dureza cálcica**

A água é de extrema importância para a fabricação da cerveja, representa cerca de 90% do seu volume final. É a parte fundamental na composição da cerveja e deve ser essencialmente, pura, pois a sua qualidade está diretamente ligada a qualidade final do produto (ROCHA, 2006).

Os sais que se encontram na água influenciam na produção da cerveja e no produto acabado (ROCHA, 2006).

Águas com maior teor de carbonato de cálcio estão relacionadas às cervejas mais escuras e adocicadas. Já a cerveja Pilsen necessita de água mole, ou seja, baixo teor de carbonato de cálcio (CORRÊA, 2008).

Segundo ANVISA (2010), que classifica vários sais de cálcio, entre eles, o “sulfato de cálcio” e “carbonato de cálcio” como nutrientes para leveduras. As quantidades típicas de cálcio na cerveja, produto acabado, variam de 35-40 ppm e a 150 ppm, evidenciando a ampla variação existente em função das características de água, malte e processo de elaboração de cerveja já mencionados.

Os valores de cálcio encontrados nas análises contribuem para formação do corpo da cerveja, espuma e estabilidade da mesma, onde as amostras B e C estão dentro dos padrões da legislação vigente, já a mostra A, artesanal, apresentou baixa dureza cálcica, provavelmente pelo fato do uso de água mineral industrializada que em comparação com a amostra B, também artesanal, que fez uso de água da fonte (poço artesiano), conseqüentemente apresentou maior dureza.

As amostras D e E apresentaram baixo teor de dureza cálcica, pelo fato de serem cervejas tipo Pilsen, que segundo ANVISA (2010), este tipo de cerveja são

produzidas com águas com baixos conteúdos de sais, cuja dureza fraca é devida a presença de bicarbonatos.

A amostra F apresentou ausência para dureza cálcica, pois a fábrica responsável pela produção desta cerveja utiliza, no tratamento da água para o processo, a filtração osmótica, que diminui, portanto, a presença de íons.

### **10.2.5 Cor e turbidez**

Segundo a legislação CP nº 69/2010 – ANVISA, cor e turbidez estão relacionadas e devem atender os padrões de: < 20 EBC para cerveja clara e > 20 EBC para cerveja escura.

Desta forma, os resultados obtidos para cor (Tabela 4), a amostra A é considerada uma cerveja clara, tanto pela análise de cor quanto pela turbidez, pois apresenta uma cor castanho-claro que não atinge os valores estipulados na legislação para cerveja escura, além de apresentar baixa quantidade de resíduo de levedura, sendo portanto, pouco turva.

A amostra B, apresentou alta unidade de cor e turbidez, portanto é considerada segundo a legislação, como cerveja escura, isso se deve ao fato dessa cerveja apresentar maior turvação e corpo de resíduo de levedura em alta quantidade.

O resultado obtido para cor em relação à amostra C pode considerá-la uma cerveja clara, pois apresenta uma cor castanho-claro, porém como esta é turva, apresentou turbidez mais alta em relação à cerveja clara, pelo fato de conter residual de fermento característico do seu tipo.

Aquarone *et al.* (2001) afirma que as cervejas Lagers Pilsen são cervejas claras e brilhantes, apresentando coloração do amarelo ao dourado. Assim sendo, as amostras D e E, que são cervejas industriais Pilsen, são as que apresentaram resultados para cor e turbidez dentro dos valores padrões para cerveja clara. Durante sua produção, são submetidas a vários processos de clarificação e filtração, que segundo Oliveira (2011), cervejas que não passam por filtração e pasteurização, apresentam formação de turbidez e mudança de cor.

A amostra F, apresentou valores dentro dos padrões de legislação vigente para cerveja clara, porém sua turbidez foi mais alta do que os padrões, pelo fato de conter em sua formulação suco de limão, que produz uma turvação na cerveja final, tornando-a menos límpida.

Segundo a CP nº 69/2010 – ANVISA, o uso de ácidos no produto final e não somente no mosto é necessário quando se deseja conferir sabor ácido à cerveja a depender do tipo de produto que será oferecido ao consumidor. Estes efeitos podem ser muito importantes em cervejas acídicas clássicas como as "Gueuze" e "Lambic", bem como as recentes cervejas aromatizadas com sabores cítricos, fabricadas em vários países e previstas no Brasil pelo Decreto 6871/2009. O sabor ácido confere um diferencial positivo ao produto em alguns casos, sendo que a escolha do ácido depende das características de sabor desejado no produto final, sendo este acidulante, ácido cítrico (INS 330), usado em concentração de 0,003g/100mL.

## 11 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados microbiológicos, todas as amostras apresentaram ausência para coliformes totais e bolores. Para contagem padrão e para leveduras, apenas as amostras A e B estão acima dos parâmetros, o que era esperado para este tipo de cerveja pelo fato de serem artesanais e não passarem pelos processos de filtração e pasteurização. Em relação à contagem padrão não existe evidências que estas bactérias apresentam risco ao ser humano, sendo assim, há grande consumo deste tipo de cerveja. Já a presença de levedura, é comum nesse tipo de cerveja que é resultante do processo de fabricação, sendo que uma pequena quantidade de levedura presente na garrafa da cerveja, não oferece risco ao consumo. Portanto, as amostras C, D, E e F, de acordo com os parâmetros, são próprias para o consumo.

Em relação aos resultados das análises físico-químicas, dentro dos parâmetros das legislações vigentes, para pH, estão de acordo as amostras C, D e E; para proteína, apenas as mostras D e F; para dureza cálcica, apenas as amostras B e C sendo que a amostra F apresentou ausência, mas está de acordo devido ao processo empregado; para cor e turbidez, todas as amostras encontram-se dentro dos parâmetros para cada tipo específico de cerveja.

Alguns fatores do processo de produção podem ter contribuído para os resultados obtidos fora das especificações, tais como: boas práticas de fabricação; higiene dos equipamentos; tanques e vasilhames utilizados; e matérias primas como malte, água, lúpulos e adjuntos, bem como tempo de fermentação, maturação, filtração e pasteurização, podem estar relacionados com as variações de pH, dureza cálcica, níveis de proteínas, cor, turbidez e presença de micro-organismos. São necessários estudos mais aprofundados para verificar com precisão o fator que interferiu na qualidade de cada uma das cervejas analisadas.

De modo geral as cervejas analisadas podem ser consideradas de boa qualidade. Essas apresentaram variações, mas que se justificam de acordo com seu tipo e com o processo empregado para sua fabricação.

## REFERÊNCIAS

ALVES, F. **História da cerveja**. 2013. Disponível em: <<http://vidadeblogueiro.net/welovebeer/>>. Acesso em: 20 jul. 2014.

ANJOS, F. M. Jr. **Produção de Cervejas – itens de controle**. 2010. 54p. Universidade Federal do Piauí. Centro de Ciências da Natureza – Departamento de Química. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAemxoAD/cerveja-controle-qualidade>>. Acesso em: 20 out. 2014.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010. **Consulta Pública (CP) nº 69, 13 junho de 2010**. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/8b9452004a51a4d385e8adaa19e2217c/Relatorio\\_Contribuicoes\\_aditivos.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/8b9452004a51a4d385e8adaa19e2217c/Relatorio_Contribuicoes_aditivos.pdf?MOD=AJPERES)>. Acesso em: 15 out. 2014.

AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. de A. **Biotecnologia Industrial**. v. 4. São Paulo: Blucher, 2001.

AULER, M. **Você sabe o que é uma cerveja Lager? E uma Ale?** 2012. Disponível em: <<http://www.cervejanaguela.blogspot.com.br/2012/06/voce-sabe-o-que-e-uma-cervaja-lager-e.html>>. Acesso em: 23 jul. 2014

AZEVEDO, K. F. **Respiração anaeróbica (fermentação)**. 2009. Disponível em: <<http://pontociencia.org.br/gerarpdf/index.php?experiencia=346>>. Acesso em: 28 jun. 2014.

BRASIL, G. **A história da cerveja**. 2014. Disponível em: <<http://www.beerlegends.com.br/historia-da-cerveja/>>. Acesso em: 28 mai. 2014.

BRASIL, Ministério da Agricultura. 2009. **Decreto nº 6871 de 14 de junho de 2009 – MAPA**. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm)>. Acesso em 15 out. 2014.

BODEN, H. **Matérias primas: Fermento**. 2009. Disponível em: <<http://henrikboden.blogspot.com.br/2009/08/bem-e-chegada-vez-do-fermento-ultima.html>>. Acesso em: 14 jun. 2014.

BOTTO, L. Matéria prima: levedura. 2009. **Revista Beerlife**. n. 5, jun., 2009. p. 10 – 11.

CÂMARA, C. **Lúpulo**. 2013. Disponível em: <<http://www.tuasaude.com/lupulo/>>. Acesso em: 23 jun. 2014.

CARNEIRO, D. D. **Bacterias e Micotoxinas na produção de cerveja medida de controle**. 2008. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAA5rAAE/bacterias-micotoxinas-na-producao-cerveja-medidas-preventivas-controle?part=3>>. Acesso em: 16 jun. 2014.

CARNEIRO, D. D. **Produção da cerveja**. 2012. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAA5qgAD/producao-cerveja>>. Acesso em: 16 jun. 2014.

CORRÊA, T. J. **Produção de cerveja**. Universidade de Franca - UNIFRAN, 2008. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAekYQAK/producao-cerveja>>. Acesso em: 19 out. 2014.

ERTHOL, A. D. **Microcervejaria**. 2007. Disponível em: <<http://www.sebrae-sc.com.br/ideais/default.asp?vcdtexto=2179&%5E>>. Acesso em: 16 jun. 2014.

FARIA, F. MARTINS, J.; OLIVO, M.; ONOFRE, V. **Cerveja Lager Plano de HACCP Qualidade e Segurança Alimentar**. 2009. Disponível em: <<http://www.aefcup.pt/apontamentos/CEQualidadeSegurancaAlimentar/fredfaria/RelatorioG8.pdf>>. Acesso em: 23 jun. 2014.

FLARYS, F. **Mercado de cervejas Premium no Brasil esta em franca fermentação**. 2014. Disponível em: <<http://g1.globo.com/rj/regiao-serrana/noticia/2014/04/mercado-de-cervejas-premium-no-brasil-esta-em-franca-fermentacao.html>>. Acesso em: 21 jun. 2014.

GOMES, T. **Manual básico cervejeiro**. 2010. Disponível em: <[http://www.acervacarioca.com.br/index.php?option=com\\_content&view=article&id=13:manual-basico-cervejeiro&catid=1:processo&Itemid=2](http://www.acervacarioca.com.br/index.php?option=com_content&view=article&id=13:manual-basico-cervejeiro&catid=1:processo&Itemid=2)>. Acesso em: 17 jun. 2014.

LUTZS, A. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1. 3. ed. São Paulo: O Instituto, 1985.

MEDEIROS, A. S.; MORAIS, A. E. R.; LIMA, S. L. C.; REINALDO, S. M. A. S.; FERNANDES, P. R. N. Importância das aulas práticas no ensino de química. In: IX CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO IFRN, 2013. Rio Grande do Norte. Brasil. **Resumos**. Rio Grande do Norte: IFRN, 2013.

NAVES, M. L. A. **Bioquímica do álcool**. 2011. Disponível em: <<http://biobiodoalcohol.blogspot.com.br/2011/01/bebidasalcoholicasfermentadas.html>> Acesso em: 26 mai. 2014.

OLIVEIRA, J. S. C.; SILVA NETO, J. L.; MENDES, T. S.; PEREIRA, R. L.; MACHADO, L. M. A importância das práticas experimentais para o ensino de química. In: ENCONTRO NACIONAL DE EDUCACAO, CIENCIA E TECNOLOGIA, 2006. Pernambuco. Brasil. **Resumos**. Pernambuco: UEPB, 2006.

OLIVEIRA, N. A. M. **Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja**. 2011. 45p. Trabalho de conclusão de curso. Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2011.

OETTERER, M. **Tecnologia de obtenção da cerveja**. 2013. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/departamentos/lan/pdf/Tecnologia%20de%20obtencao%20cerveja.pdf>>. Acesso em: 29 jun. 2014.

PASSARELLI, E. O elemento-base da cerveja. **Revista Beerlife**. n.3, dez., 2008. p.9–12.

PEDROSO, M. **Curiosidades: Lei de pureza Alemã de 1516**. 2012. Disponível em: <<http://cervaartesanal.blogspot.com.br/p/curiosidades.html>>. Acesso em: 20 jun. 2014.

PELCZAR, M. J. Jr.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia, conceitos e aplicações**. 2ª ed. São Paulo: Editora Afiliada, 1996.

REINOLD, M. R. **Os antioxidantes da cerveja reduzem o risco de catarata**. 2011. Disponível em: <<http://www.cervesia.com.br/agua/152-o-tratamento-de-agua-na-cervejaria.html>>. Acesso em: 06 jun. 2014.

ROCHA, C. G.; BEZERRA, A. C. S. A importância da prática aliada a teoria no ensino de química. In: 11º SIMPÓSIO BRASILEIRO DE EDUCAÇÃO QUÍMICA, 2013. Teresina. Brasil. **Resumos**. Teresina – PI, 2013.

ROCHA, J. R. T. **Fermentação Alcoólica na Indústria Cervejeira**. 2006. 36p. Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Superior de Educação. Departamento de Ciências e Tecnologia. Praia, 2006.

SANGION, R.; BELTRAMELLI, M. **O que é cerveja**. 2007. Disponível em: <<http://www.brejas.com.br/cerveja.shtml>>. Acesso em: 27 mai. 2014.

SILVA, C. **PRODUÇÃO ETANOL A PARTIR FERMENTAÇÃO DA CASCA DE MANDIOCA**, 2013. Disponível em: <<http://id.netlog.com/atinusilva/blog/blogid=183530>>. Acesso em: 22 jun. 2014.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos e análises microbiológica de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2001.

TELLES, D. Faça sua cerveja. **Revista Galileu**. n. 270, jan., 2014. p. 36.

WE Consultoria. **Lei de pureza Alemã de 1516**. 2009. Disponível em: <[http://www.comofazercerveja/conteudo/view?ID\\_CONTEUDO=10](http://www.comofazercerveja/conteudo/view?ID_CONTEUDO=10)>. Acesso em: 20 jun. 2014.