

ESTUDO CINÉTICO DOS FERMENTOS CERVEJEIROS CN36 VERSUS US05

Andressa Luciele da Silva, Sarah Moreira Silva Lima, Fatima Maria Broca, Ana Maria Barbosa

Universidade do Vale do Paraíba/Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Avenida Shishima Hifumi, 2911, Urbanova - 12244-000 - São José dos Campos-SP, Brasil, andressalucielesilva@gmail.com, sarahmslima@gmail.com, fbroca@univap.br, ana.barbosa@univap.br.

Resumo

A produção de cerveja é uma prática que foi sendo aperfeiçoada ao longo dos séculos, tendo em vista a grande demanda pela bebida, e tem como etapa mais importante a fermentação alcoólica. Esta etapa consiste no consumo dos açúcares presentes no malte por leveduras cervejeiras, resultando na liberação de álcool e gás carbônico. Neste trabalho, foram comparados, sob critérios de cinética química, estudo das velocidades das reações, os desempenhos de dois fermentos cervejeiros distintos, mas pertencentes a mesma cepa (*Saccharomyces cerevisiae*): a levedura US05, conhecida e muito utilizada no mercado atual, e a levedura CN36, relativamente nova e pouco estudada. Este estudo, à priori, foi realizado por meio do preparo e análise de soluções de sacarose. Foram analisados os parâmetros: Brix, turbidez, densidade, percentual de álcool produzido, quantidade de sólidos e células presentes. Como conclusão, após estudo dos resultados obtidos, a levedura CN36 apresentou melhor desempenho.

Palavras-chave: Cerveja. Cinética. Fermentação. Álcool.

Área do Conhecimento: Engenharias, Engenharia Química.

Introdução

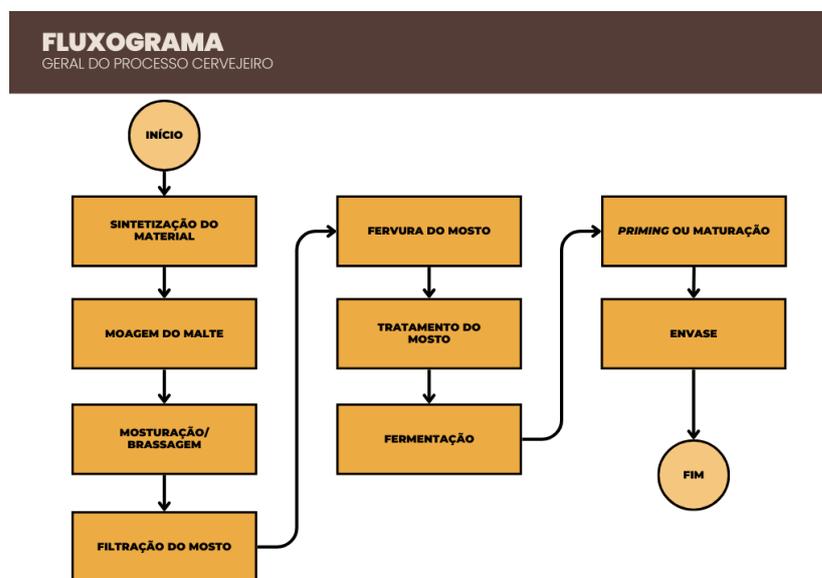
A cinética química trata-se do estudo das velocidades das reações químicas (Fogler, H. S., 2009). A velocidade de uma reação química diz o quão rápido a concentração molar de uma determinada espécie química está sendo consumida para formar outra espécie química (Fogler, H. S., 2009). Nesse contexto, a taxa de consumo de uma espécie é o número de suas moléculas que perdem suas propriedades químicas por unidade de tempo e volume durante uma reação por meio da quebra e subsequente reorganização das ligações químicas (Fogler, H. S., 2009).

A cerveja é uma das bebidas mais consumidas do mundo, sendo resultante de um processo de fermentação alcoólica do mosto proveniente da cevada maltada e água potável, utilizando como agente fermentador a levedura e acrescido de lúpulo (BARBOSA, L. M., 2018). Sua produção é uma prática milenar, remontando às origens da civilização, que combina ambas arte e ciência (BARBOSA, L. M., 2018). Atualmente, o Brasil é um dos maiores mercados consumidores e produtores de cerveja do mundo, tendo grandes empresas como Ambev (fusão entre Brahma e Antarctica) dominando o cenário (BARBOSA, L. M., 2018).

O processo de produção de cerveja pode variar de acordo com o produto desejado ao final. Mas, basicamente, o processo envolve: escolha e preparo das matérias primas, moagem do malte, mosturação, filtração, fervura, tratamento do mosto, fermentação, maturação, clarificação, envase e pasteurização (FERREIRA, E. C., 1999). Na Figura 1, há um fluxograma geral do processo.

A fermentação é a etapa mais crucial do processo, iniciada logo após a inoculação da levedura, uma vez que o mosto já está devidamente resfriado e aerado (FERREIRA, E. C., 1999). É nesta etapa que os açúcares presentes no mosto cervejeiro (mistura do malte escolhido, água e lúpulo) são consumidos pela levedura, numa reação que libera álcool (etanol) e dióxido de carbono (BARBOSA, L. M., 2018). Além destes, a reação pode ter produtos secundários, ou subprodutos, aldeídos, ésteres, ácidos, álcoois superiores, compostos sulfurados, fenóis, entre outros (BARBOSA, L. M., 2018).

Figura 1: Fluxograma de produção da cerveja.



Fonte: o autor, via Canva.

A equação que descreve a formação de álcool na etapa de fermentação é:



(Onde, $C_2H_{12}O_6$ = glicose, C_2H_5OH = etanol, CO_2 = dióxido de carbono e ATP = energia);
(FERREIRA, E. C., 1999).

Existem dois tipos de fermentação principais na produção de cerveja, e estes diferenciam-se devido a temperatura em que as reações ocorrem e leveduras utilizadas (SOMMELIER, G. S.-J. E). A fermentação alta (Ale), utilizada neste estudo, acontece em temperaturas mais altas, de 16 a 24 °C e utiliza leveduras de cepa *Saccharomyces cerevisiae* (SOMMELIER, G. S.-J. E). Já na fermentação baixa (Lager), a levedura (cepa *Saccharomyces pastorianus*) fermenta em temperaturas de 5 a 12 °C (SOMMELIER, G. S.-J. E).

Ambas as leveduras utilizadas neste estudo pertencem à família da cepa *Saccharomyces cerevisiae*, utilizadas em fermentações tipo Ale. A levedura US05 é amplamente utilizada no mercado, tendo confiabilidade e características conhecidas. Já a levedura CN36 é pouco conhecida e estudada até o momento.

O controle do processo de fermentação é algo de extrema importância para uma boa qualidade da cerveja. Entre os parâmetros que devem ser monitorados, estão: temperatura, pH, cheiro, aspecto da espuma, Brix de alimentação e final, teor alcoólico, concentração de açúcares e crescimento celular (SANTOS, J. A. G., 2022).

Metodologia

Diferenciando-se dos dois artigos usados como base para a metodologia, de Santos (2022) e Santos (2018), preparou-se uma solução de sacarose em água desmineralizada e ferveu-se por 90 minutos, tendo esta, ao final, concentração comum de 142 g/L. Esta solução foi dividida em duas porções iguais e a cada uma foi adicionado uma das leveduras escolhidas, realizando-se a dissolução em seguida. Dessa forma, uma porção recebeu a levedura CN36 e a outra, a levedura US05.

Cada porção da solução (agora com fermento) foi armazenada em 21 garrafas growler, com airlocks em suas tampas e devidamente identificadas. As 21 garrafas foram divididas em 3 (A, B e C) para cada dia.

As análises foram realizadas, todas em triplicata, ao longo de 7 dias (tendo um intervalo de 2 dias, totalizando, assim, 9 dias corridos).

Foram realizadas as seguintes análises: Brix, turbidez (através da aferição da absorvância), densidade, quantidade de sólidos após centrifugação de amostra e quantidade de células (em câmara de Neubauer).

Para a preparação de cada amostra, seguiu-se o procedimento: retirou-se a tampa com *airlock* e aplicou-se uma tampa comum, e em seguida, as garrafas foram cuidadosamente agitadas. Retirou-se aproximadamente 50 mL de cada garrafa, e os volumes foram depositados em béqueres de 50 mL devidamente identificados.

No momento de cada análise foram aferidas também as temperaturas (com termômetro digital *tp101*) dos líquidos.

A aferição de densidade e graus Brix foi realizada com uso de refratômetro *RM-T90 ATC*. Retirou de cada amostra uma pequena quantidade de líquido com uso de pipeta de Pasteur e depositou-se na superfície do refratômetro (prisma), previamente limpo, 2-3 gotas. Fechou-se a tampa cuidadosamente, segurou-se o refratômetro em direção a luz e leu Brix e densidade olhando-se no visor e observando-se a linha a posição da linha divisória entre a área clara e escura.

A aferição da condutividade de cada amostra foi realizada utilizando-se condutímetro digital de bancada *MA 521 MARCONI*, previamente calibrado com solução padrão de 146 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

As análises de absorvância, para posterior cálculo da turbidez, foram realizadas com amostras diluídas em concentrações diferentes de 0,02 a 0,3 g/L de solução. Essas amostras foram colocadas em cubetas e analisadas individualmente no espectrofotômetro *Varian Cary 50*.

Para a análise de quantidade de sólidos, retirou-se 10 mL de cada amostra com pipeta volumétrica e pera, e transferiu-se o volume para tubo de ensaio com tampa. Para totalizar 8 tubos (para equilíbrio total na centrífuga *EXCELSA II FANEM*) foram preenchidos dois tubos com água. A centrifugação foi de 20 minutos numa velocidade de 5.000 rpm e, antes de seu início, foram retiradas todas as tampas dos tubos. Após separação, a parte líquida presente em cada tubo foi descartada, deixando apenas o sólido remanescente no fundo. Adicionou-se 10 mL de água destilada para cada tubo e agitou-se, formando, então, soluções com os sólidos ao fundo. Essas soluções foram transferidas para cadinhos previamente identificados e pesados (com balança analítica de bancada *BK400 GEHAKA*). Esses cadinhos foram transferidos para a estufa (inserir marca), onde foram deixados por aproximadamente 8 horas. Após o tempo na centrífuga, os cadinhos ficaram aproximadamente 2 horas em um dessecador para resfriar sem absorver umidade, por fim, foram pesados novamente.

Para a análise de quantidade de células, foram retiradas alíquotas de 1 mL (com pipeta graduada e pera) de cada amostra, essas sendo transferidas para tubos de ensaio com tampas, previamente identificados. À cada 1 mL de solução, foi adicionado 1 mL de solução de azul de metileno 0,01 g/100 mL de água destilada e agitou-se o tubo para homogeneização.

Para os próximos passos, foram utilizados microscópio de bancada *Trinocular Opton TIM-2008 t*, câmara de Neubauer e lamínulas de vidro (estes higienizados a cada amostragem com álcool 70% e água destilada). Com pipeta de Pasteur, foi retirada uma pequena quantidade da solução (adicionada com azul de metileno). Foram depositadas algumas gotas sobre a câmara de Neubauer e, em seguida, colocou-se a lamínula sobre o líquido, cuidadosamente para evitar a ocorrência de bolhas. A câmara de Neubauer, então, foi colocada no microscópio e ajustou-se a ampliação. As células foram, então, contadas nos limites de 5 quadrantes diferentes.

Resultados

Os resultados das análises de Brix, turbidez, número de células totais, quantidade de sólidos, densidade corrigida (medida por refratômetro), % de álcool em ABV dos 7 dias seguem em Tabela 1.

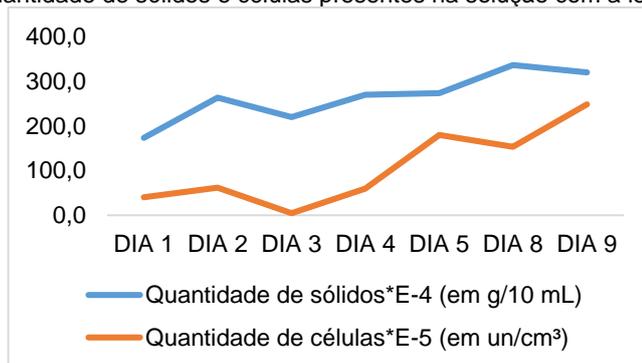
Tabela 1: Resultados de Brix, turbidez, células totais, sólidos totais, densidade corrigida e % álcool em ABV das soluções com leveduras CN36 e US05

Brix		Turbidez (por g/L de solução)		Células totais *E-5.(un/cm ³)		Sólidos totais (g/10 mL de solução)		Densidade corrigida (mg/cm ³)		% álcool em ABV	
CN36	US05	CN36	US05	CN36	US05	CN36	US05	CN36	US05	CN36	US05
13,22	13,17	-	-	41	74	0,017	0,019	1052,9	1052,7	0	0
11,37	11,6	0,3807	0,4738	62	97	0,026	0,020	1045,5	1046,4	0,98	0,81
9,17	9,52	0,4072	0,3871	85	95	0,022	0,028	1036,7	1038,1	2,12	1,93
7,00	7,35	0,7058	0,8219	60	112	0,027	0,029	1028	1029,4	3,25	3,03
5,77	6,15	0,8195	1,0632	180	172	0,027	0,025	1023,1	1024,6	3,9	3,66
4,80	5,4	1,0191	1,1049	153	153	0,034	0,039	1019,2	1021,6	4,41	4,07
3,95	4,67	1,2188	1,1464	249	169	0,032	0,022	1015,8	1018,7	4,84	4,42

Fonte: o autor.

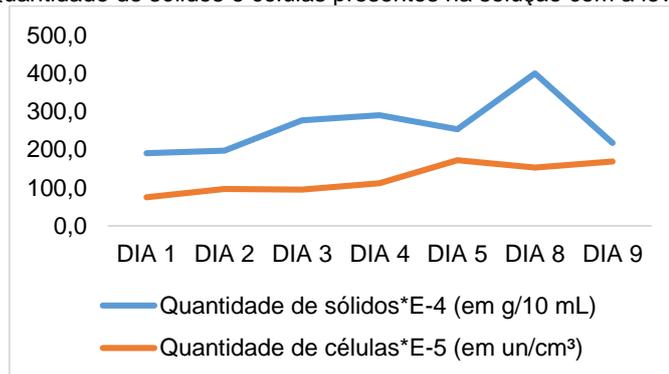
A relação entre as quantidades de sólidos (após centrifugação da amostra e tempo na estufa) e células (em microscópio e câmara de Neubauer) da solução com fermento CN36 está presente na Figura 2. A mesma relação para a solução com fermento US05 está presente em Figura 3.

Figura 2: Quantidade de sólidos e células presentes na solução com a levedura CN36.



Fonte: o autor.

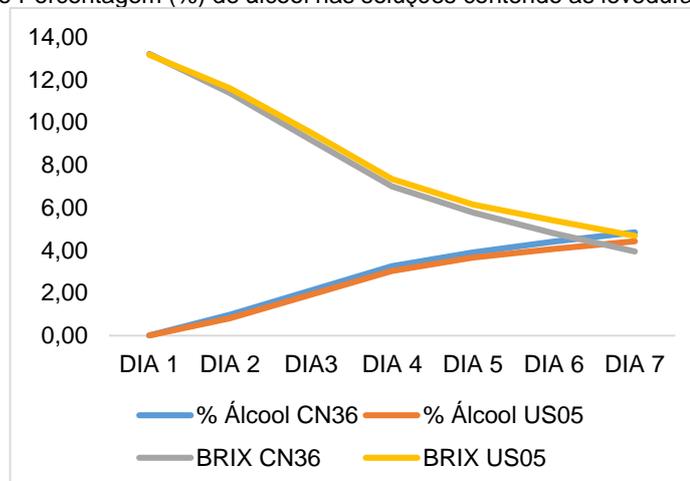
Figura 3: Quantidade de sólidos e células presentes na solução com a levedura US05.



Fonte: o autor.

O comparativo de Brix e quantidade (em %) de álcool em cada dia de ambas as soluções (com as leveduras CN36 e US05) está presente em Figura 4.

Figura 4: Brix e Porcentagem (%) de álcool nas soluções contendo as leveduras CN36 e US05.



Fonte: o autor.

Discussão

Comparando os dados presentes em Tabela 1 e Figuras 2 e 3, nota-se que a solução com a levedura CN36 apresentou um crescimento celular maior durante os dias analisados, em comparação a solução contendo US05. Além disso, a quantidade de sólidos se mostrou constante nas análises da solução de CN36.

Analisando ainda os resultados presentes em Tabela 1, percebe-se que a solução de CN36 apresenta um aumento da turbidez mais uniforme, enquanto a solução de US05 apresenta maior variação, possivelmente refletindo um comportamento mais dinâmico ou complexo das partículas em suspensão à medida que a concentração aumenta.

Analisando o gráfico presente em Figura 4, nota-se que a solução de CN36 apresentou melhor desempenho na produção de álcool. Acredita-se que um dos fatores que podem ter influenciado na formação relativamente baixa de álcool é a presença de açúcares redutores e formação de outros compostos. Além disso, é perceptível a relação inversa entre Brix e percentual de álcool ao longo dos dias: enquanto os valores de Brix diminuem, o percentual de álcool aumenta.

Conclusão

Inicialmente, com base nas soluções de sacarose e na análise dos resultados de contagem de células e porcentagem de álcool (conforme Figuras 2, 3 e 4), conclui-se que a levedura CN36 apresenta melhor desempenho na conversão de açúcares em álcool. Como próximo passo, as mesmas análises serão realizadas com soluções de malte e os mesmos fermentos.

Em relação aos resultados obtidos para os demais parâmetros (como pH, absorvância e densidade), apesar de não haver muitos estudos sobre as duas leveduras estudadas, os valores obtidos estão dentro dos limites presentes na literatura (Kunze, W., 2014; Brookes, P. A., & Stevens, R., 2004).

Referências

BARBOSA, L. M. **A PRODUÇÃO DE CERVEJA AO LONGO DA HISTÓRIA**. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo – Campus Barretos. 18, outubro, 2018. Disponível em: <<https://brt.ifsp.edu.br/phocadownload/userupload/213354/A%20PRODUO%20DE%20CERVEJA%20AO%20LONGO%20DA%20HISTRIA.pdf>>.

BATISTA, E. L. A. **CERVEJA ARTESANAL: UMA REVISÃO SOBRE O SEU PROCESSO DE PRODUÇÃO E SEU POTENCIAL ANTIOXIDANTE.** Universidade Federal de Uberlândia - Faculdade de Engenharia Química. 8, outubro, 2015. Disponível em: <<https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/32568/1/CervejaArtesanalRevis%c3%a3o.pdf>>.

BRIGGS, D. E., et al. **Brewing: Science and Practice.** Woodhead Publishing. 2004, 1. ed.

FERREIRA, Edilene Cristina; MONTES, Ronaldo. **A química da produção de bebidas alcoólicas.** Universidade Federal de São Carlos, São Paulo. Disponível em: <http://qnesc.sbc.org.br/online/qnesc10/exper1.pdf>>.

FOGLER, H. S. **Elementos de Engenharia das Reações Químicas.** 2009, 4.ed.

KUNZE, W. **Technology Brewing and Malting.** VLB Berlin. 2014, 1. ed.

LOPES, Valter. **História da Cerveja.** Disponível em: <<https://memorialdaindustriago.com.br/memorial/static/downloads/09-historia-da-erveja-up616171416.pdf>>.

SANTOS, João Arthur Galmarini Dos. **PRODUÇÃO E ANÁLISE DE CERVEJA ESTILO TRADICIONAL FARMHOUSE ALE COM FERMENTO KVEIK NORUEGUÊS.** Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal da Paraíba, Paraíba. 28, junho, 2022.

SANTOS, Sharline Florentino de Melo; et al. **ANÁLISE CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO DAS LEVEDURAS COMERCIAIS S-04 E S-33.** Revista Saúde & Ciência Online. v. 7, n. 2, (maio a agosto de 2018). 502 p.208

SOMMELIER, G. S.-J. E. **Ale x Lager: quais as diferenças?**

Agradecimentos

À Univap pelo suporte e estrutura, à Central de Análise do IP&D Univap e a Profª Drª Maria Regina de Aquino Silva pela disponibilização do laboratório para análises microbiológicas.