



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2017: FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DA UFRGS - FINOVA
<b>Ano</b>	2017
<b>Local</b>	Campus do Vale - UFRGS
<b>Título</b>	Otimização da reutilização de fermentos na produção de cerveja, visando o aumento dos rendimentos e consequente diminuição no custo do produto final
<b>Autor</b>	HENRIQUE MAUTONE GOMES
<b>Orientador</b>	JOSE CLAUDIO FONSECA MOREIRA

# RELATÓRIO

## ATIVIDADES DO ALUNO DE INICIAÇÃO TECNOLÓGICA E INOVAÇÃO 2016-2017

[máximo duas páginas]

**TÍTULO DO PROJETO:** Desenvolver protocolos que otimizem a reutilização de fermentos na produção de cervejas, aumentando o rendimento dos mesmos e a consequente diminuição do custo final do produto

---

**Orientador:** José Cláudio Fonseca Moreira

**Aluno:** Henrique Mautone Gomes

**Período integral das atividades:** 01/08/2016 a 30/07/2017

### RELATÓRIO DE ATIVIDADES

---

#### I. Introdução:

O objetivo do projeto, foi desenvolver protocolos que otimizassem a reutilização de fermentos na produção de cervejas, aumentando o rendimento dos mesmos e a consequente diminuição do custo final do produto, bem como, padronizar metodologias de quantificação das propriedades antioxidantes das cervejas produzidas e distribuídas no Rio Grande do Sul. Nos utilizamos principalmente as cervejas produzidas pela cervejaria ANNER que ha muito tempo já desenvolve projetos de pesquisa e desenvolvimento tecnológico com nosso laboratório.

#### Atividades realizadas:

**Reutilização do fermento :** Ao final da maturação da cerveja analisada o fermento precipitado no fundo cônico do fermentador foi coletado sob condições assépticas e armazenados em ependorffs estéreis para análise do número de células viáveis, eventuais contaminações por bactérias e para a análise genética do fermento. O restante do fermento foi coletado em Erlenmeyer com glicerol 3:7 (3 volumes de glicerol para 7 volumes de fermento), identificado com o número de utilizações e a data em que foi inoculado, e armazenado em freezer -20C. O fermento coletado na produção anterior foi então reinoculado nas subseqüentes produções da receita base, totalizando 10 reutilizações do mesmo fermento.

**Propriedades antioxidantes:** Amostras das receitas base produzidas na cervejaria Anner apos cada reutilização foram trazidas para o laboratório . Estas cervejas foram testadas levando-se em conta suas respectivas datas de fabricação. O potencial antioxidante foi determinado em diferentes sistemas in vitro com variados agentes geradores de radicais livres.

**Viabilidade do fermento e análise da contaminação bacteriana:** A viabilidade do fermento foi analisada em cada uma das dez reutilizações previstas, através de cultivo e contagem de Unidades Formadoras de Colônias por mL (UFCs/mL). Para tal, 1 mL do fermento coletado após maturação foi centrifugado no próprio eppendorf onde foi armazenado (2000g, 3 minutos). Após, o sobrenadante será descartado e as células de fermento ressuspensas em solução salina 0,9%. A suspensão foram então submetida a diluições seriadas de  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$  e semeadas em meio de cultura YPD-ágar (extrato de levedura a 1%, peptona a 2%, glicose a 2% e ágar a 2%) em placas de Petri.

**Análise genética do fermento - danos ao DNA.:** Método de detecção de fragmentos de DNA (teste Cometa): o teste cometa em pH alcalino foi realizado como descrito por Singh et al. (1988) com pequenas modificações [Hartmann &

Speit, 1997; Miloshev et al., 2002]

**Análise sensorial:** A análise sensorial foi realizada através de degustações feitas por voluntários distribuídos em três categorias: especialistas (produtores de cerveja artesanal e/ou com formação em análise sensorial), intermediários (consumidores de cervejas especiais sem formação em análise sensorial) e leigos (sem nenhuma e/ou genéticas observadas).

## 2. *Objetivos atingidos:*

Todos os objetivos propostos no projeto foram atingidos e ressaltado que os passos para atingi-los foram realizados pelo bolsista.

## 3. *Resultados obtidos:*

Após a primeira utilização a análise de células viáveis mostrou que havia um número de células viáveis que correspondia a 85% do total de células, o que nos fez acreditar que seria possível a reutilização. A análise de contaminantes não evidenciou nenhuma contaminação seria o bastante para impedir a reutilização dos mesmos, mas era possível evidenciar a presença significativa de outros indivíduos fermentadores no sistema. Nas análises subsequentes de reutilização pudemos evidenciar que com a reutilização o número de células viáveis cai em média de 10 a 15 % por reutilização e que a taxa de presença de contaminantes fermentadores aumenta. Houve um aumento nos danos ao DNA dos fermentos a cada etapa de reutilização, este aumento ficou na taxa dos 15 % em média após cada reutilização, sugerindo que o estresse oxidativo do processo de multiplicação do fermento e da fermentação em si acabam por gerar danos ao DNA que podem ocasionar mutações nos sobreviventes o que pode ser responsável pelas alterações nas propriedades observadas. Nossos resultados sugerem ser muito difícil manter as características do produto final após a 3ª reutilização do fermento. As cervejas apresentaram propriedades antioxidantes de característica razoável nos testes in vitro quando comparadas a antioxidante padrão TROLOX® e estas propriedades não se deviam ao teor de álcool das mesmas mas tinham correlação com os níveis de compostos secundários presente xantumol e isoxantumol, no entanto, nos testes in vivo não apresentaram os mesmos resultados. Animais que consumiram a cerveja por 2 meses em taxas correspondentes a média de consumo da população não apresentaram nenhum tipo de transferência de proteção antioxidante nem em situação basal e nem em frente a um agente oxidante brandos. Vale ressaltar que devido ao aumento de produtos secundários inespecíficos as propriedades antioxidantes foram diminuindo em média 25 % a cada reutilização do fermento. A análise de contaminação bacteriana mostrou um aumento gradual na contaminação a cada reutilização, o que já era esperado, devido ao ambiente onde o processo ocorre, umidade, calor, nutrientes estão muito presentes e também que muito dos processos mesmo seguindo todas as determinações de prevenção não é um ambiente estéril.

A análise sensorial mostrou que após a 4ª utilização as diferenças sensoriais são facilmente percebidas por especialistas e depois da 6ª por todos os outros testadores, inclusive para a maior parte dos testadores o produto apresentava odor e sabor residual desagradável.

## 4. *Conclusão:*

A reutilização de fermento, apesar de ser importante para o custo da produção traz riscos ao produto final, para que seja realizado é necessário uma série de cuidados especiais para garantir a não contaminação durante a reutilização (talvez o uso de antibióticos – mas seria necessário testar e avaliar os custos) e até mesmo o uso de substâncias antioxidantes que minimizassem os danos ao DNA dos fermentos a serem reutilizados, o que também poderia alterar o produto final e os custos de produção. Uma possibilidade a ser testada seria o aumento dos níveis de lúpulo em todo o processo para uma maior utilização dos compostos secundários com propriedades antioxidantes do mesmo na proteção do material dos fermentos durante as etapas iniciais de fermentação, no entanto, devido ao custo do lúpulo este procedimento também elevaria os custos de produção devendo sua eficiência e custos serem avaliados para uma boa conclusão.

***[Considerar apenas as atividades realizadas pelo estudante]  
[Relatórios de Projetos da Linha de Pesquisa não serão aceitos]***