

Avaliação da influência de aromas gerados por leveduras não convencionais utilizadas na produção de cerveja: uma revisão

Evaluation of the influence of aromas generated by unused yeast used in beer production: a review

Evaluación de la influencia de los aromas generados por levaduras no convencionales utilizadas en la producción de cerveza: una revisión

Recebido: 02/12/2022 | Revisado: 13/12/2022 | Aceitado: 14/12/2022 | Publicado: 19/12/2022

Ricardo Lavor Pina

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9368-3477>
Universidade Federal do Pará, Brasil
E-mail: rlpina94@gmail.com

Délis Cristina Palheta Cruz

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3961-3299>
Universidade Federal do Pará, Brasil
E-mail: delispalhetac@gmail.com

Marlice Cruz Martelli

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8512-2706>
Universidade Federal do Pará, Brasil
E-mail: martelli@ufpa.br

Resumo

A modernidade cria tendências que promovem demandas por parte dos consumidores e fabricantes, na produção de cerveja não foi diferente. Em busca de uma maior complexidade perceptual, as leveduras não convencionais surgem como alternativas para o enriquecimento dos atributos da bebida. A utilização das não-*Saccharomyces* no processo de fermentação tem proporcionado a maior presença de álcoois superiores, ésteres e fenóis voláteis, além de ácidos carboxílicos e aldeídos, os quais originam um buquê sensorial. Neste contexto, este trabalho tem a finalidade de apresentar uma revisão de literatura referente ao perfil aromático das cervejas utilizando leveduras não convencionais sob fermentação isolada ou mista. O levantamento foi realizado em periódico internacional entre os anos de 2016 a 2022, no qual foram obtidos nove artigos sobre o tema. As pesquisas selecionadas estudaram oito gêneros (*Torulaspora*, *Pichia*, *Brettanomyces*, *Hanseniaspora*, *Zygotorulaspora*, *Zygoascus*, *Kazachstania* e *Saprochaete*) e catorze espécies de microrganismos. Como resultado destaca-se a capacidade de assimilar açúcares, tolerância à temperatura e resistência ao etanol. Identificou-se que diferentes substâncias proporcionam olências distintas, entre elas, frutado, floral e adocicado são predominantes, além de notas alcóolicas, de cereais, folhas verdes, entre outros. Também se notou odores desagradáveis devidos à concentração de diacetil e metional, originando aromas de manteiga, legumes cozidos e rançoso. Portanto, a revisão torna-se uma ferramenta para entender os pontos relevantes das leveduras e quais são as adequadas para o estilo de cerveja desejável.

Palavras-chave: Aromas; Leveduras não convencionais; Cerveja.

Abstract

Modernity creates new trends that promote demands from consumers and manufacturers, and beer production was no different. In search of greater perceptual complexity, non-conventional yeasts emerge as alternatives for enriching the beverage's attributes. The use of non-*Saccharomyces* in the fermentation process has provided a greater presence of higher alcohols, esters and volatile phenols, in addition to carboxylic acids and aldehydes, which originate a sensory bouquet. In this context, this work aims to present a literature review regarding the aromatic profile of beers using non-conventional yeasts under isolated or mixed fermentation. The survey was carried out in an international journal between the years 2016 to 2022, in which nine articles on the subject were obtained. The selected studies studied eight genera (*Torulaspora*, *Pichia*, *Brettanomyces*, *Hanseniaspora*, *Zygotorulaspora*, *Zygoascus*, *Kazachstania* and *Saprochaete*) and fourteen species of microorganisms. As a result, the ability to assimilate sugars, temperature tolerance and resistance to ethanol stand out. It was identified that different substances provide different odors, among them, fruity, floral and sweet are predominant, in addition to alcoholic notes, cereals, green leaves, among others. Unpleasant odors were also noted due to the concentration of diacetyl and methional, giving rise to aromas of butter, cooked vegetables and rancidity. Therefore, the review becomes a tool to understand the relevant yeasts and which ones are suitable for the desired beer style.

Keywords: Scents; Unconventional yeasts; Beer.

Resumen

La modernidad crea nuevas tendencias que promueven las demandas de los consumidores y fabricantes, y la producción de cerveza no fue diferente. En busca de una mayor complejidad perceptiva, las levaduras no convencionales surgen como alternativas para enriquecer los atributos de la bebida. El uso de no-*Saccharomyces* en el proceso de fermentación ha proporcionado una mayor presencia de alcoholes superiores, ésteres y fenoles volátiles, además de ácidos carboxílicos y aldehídos, que originan un bouquet sensorial. En este contexto, este trabajo tiene como objetivo presentar una revisión de la literatura sobre el perfil aromático de las cervezas utilizando levaduras no convencionales en fermentación aislada o mixta. La encuesta se realizó en una revista internacional entre los años 2016 a 2022, en la que se obtuvieron nueve artículos sobre el tema. Los estudios seleccionados estudiaron ocho géneros (*Torulaspota*, *Pichia*, *Brettanomyces*, *Hanseniaspora*, *Zygorulaspota*, *Zygoascus*, *Kazachstania* y *Saprochaete*) y catorce especies de microorganismos. Como resultado, se destacan la capacidad de asimilación de azúcares, la tolerancia a la temperatura y la resistencia al etanol. Se identificó que diferentes sustancias aportan diferentes olores, entre ellos predominan los frutales, florales y dulces, además de notas alcohólicas, cereales, hojas verdes, entre otros. También se notaron olores desagradables debido a la concentración de diacetilo y metional, dando lugar a aromas de mantequilla, vegetales cocidos y ranciedad. Por lo tanto, la revisión se convierte en una herramienta para comprender las levaduras relevantes y cuáles son adecuadas para el estilo de cerveza deseado.

Palabras clave: Aromas; Levaduras no convencionales; Cerveza.

1. Introdução

Considerada uma das bebidas mais antiga e consumida no mundo, a cerveja se alinha com tradições e hábitos de diferentes povos. O Brasil representa o terceiro maior produtor de cerveja obtendo 13,3 bilhões de litros, onde perde apenas para os Estados Unidos (22,1 bilhões) e a China (46 bilhões), com o aumento do consumo em 5% por ano (da Silva et al. 2022). Desde 2017 o setor é crescente, atraindo cada vez mais empreendedores, apontando para maior concentração no estado do Rio Grande do Sul, São Paulo e Minas Gerais. Segundo a Associação Brasileira da Indústria da Cerveja (CervBrasil, 2017) o ramo cervejeiro movimenta 1,6% do PIB nacional (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2022).

Com a grande demanda torna-se tendência a diversificação dos tipos de cerveja e recentemente, o mercado tem contado com 20 mil tipos compostos de diferentes matérias-primas, adjuntos e técnicas de preparo. Como uma forma para proporcionar o realce do aroma e sabores, algumas cervejas especiais adicionam frutas, especiarias, temperos, chás, ervas e etc. Visando otimização da qualidade da bebida realiza-se a escolha de leveduras, sendo a espécie *Saccharomyces cerevisiae* mais conhecida e classificada como levedura convencional (Gibson, et al., 2020, Sorbo & Broetto, 2019).

Alguns empreendedores produzem cervejas distintivas através da exploração de leveduras não convencionais que proporcionam atributos notáveis à bebida. Segundo Masneuf-Pomarede et al. (2016), as leveduras não-*Saccharomyces* são encontradas por todo ambiente e associam-se com o processo de fermentação adequado para a produção de cerveja. O grande destaque é que as leveduras não-convencionais têm o potencial para produzir uma variedade de substâncias responsáveis pelas propriedades organolépticas, trazendo uma inovação e melhoria ao setor cervejeiro (Gschaedler, 2017).

O perfil sensorial da cerveja é de extrema importância devido apresentar características delicadas e lábeis. As propriedades da bebida se originam da presença de vários compostos ativos, conferindo principalmente aroma e sabor. A olência do produto é um grande exemplo, devido ser resultado de substâncias voláteis e não voláteis, onde lhe confere o cheiro característico da cerveja. Tais atributos instigam vários apreciadores que buscam viver experiências sensoriais e inovadoras proporcionadas pelos diferentes tipos de mercadorias produzidas pelo setor cervejeiro (Silva, et al., 2021).

Diante das variedades dos tipos de cerveja e conseqüentemente do perfil aromático de cada, o presente trabalho tem o objetivo de realizar o levantamento de pesquisas para compor uma revisão da literatura sistemática. O foco são as cervejas produzidas com leveduras não convencionais e quais as variações das olências da bebida. A revisão é realizada na plataforma *Science Direct e Google Scholar* entre os anos de 2016 e 2022, em português e inglês, encontrando-se nove artigos para serem analisados e discutidos.

2. Metodologia

A revisão sistemática da literatura tem a finalidade de contextualizar o estudo, propor uma análise e construir uma síntese do assunto de interesse. A modalidade da pesquisa procura reduzir imprecisões sistemáticas e aleatórias, obtendo maior clareza no levantamento do tópico. Uma das aplicações da revisão é o estudo do fenômeno para apontar comparações, preencher lacunas ou desenvolver uma intervenção, em que questões não exploradas são as mais desejadas para orientar novos conhecimentos e pensamentos sobre o tema (Dermeval, Coelho e Bittencourt, 2020).

A metodologia utilizada para a composição e seguimento do trabalho foi preconizada por Dermeval, Coelho e Bittencourt (2020) em que é abordado o protocolo que abrange três fases principais: o planejamento, condução e relatório. A etapa inicial consiste na formulação da questão principal apresentando uma necessidade de discussão, em seguida a condução abrange a busca, seleção, avaliação e extração de dados relevantes sobre a problemática. Nesse estágio é válido adotar critérios de seleção e exclusão, como estratégia de pesquisa. Por fim, são reunidas as informações e desenvolvidas a resposta e a correlação dos resultados obtidos. Tal método foi adotado para o desenvolvimento do presente artigo, no qual foram empregadas as três fases.

2.1 Planejamento

O planejamento para a questão principal foi acerca do papel das leveduras no processo produtivo da cerveja, em que uma pesquisa preliminar tendeu a avaliar a necessidade de discussão de microrganismos não convencionais que ganham espaço no mercado, neste sentido, a questão norteadora da pesquisa foi qual a influência de aromas gerados por leveduras não convencionais utilizadas na produção de cerveja? O foco se estabeleceu sobre o perfil aromático sendo uma das propriedades da bebida apreciada pelos consumidores.

2.2 Condução

Para a etapa seguinte, a condução, foram adotados os descritores “unconventional yeast” e “non-Saccharomyces” na base de dados da plataforma do *Science Direct*. Como critério de inclusão foram adotados os artigos em inglês, entre os anos de 2016 a 2022. Também foi empregada a filtragem combinada com a palavra-chave “beer”, onde o filtro foi aplicado após observar a variedade de investigações em outras áreas e com a finalidade de restringir a busca. Na plataforma foi adotada a opção de selecionar somente artigos de pesquisa, ou seja, excluir teses, revisões, livros, enciclopédias, dissertações, relato de casos, etc.

Ainda como estratégia de elegibilidade realizou-se a triagem com a leitura de títulos e resumos para estreitar a quantidade materiais selecionados e remoções de artigos duplicados. Além do reconhecimento aprofundado resultando na remoção de trabalhos com abordagem distinta da proposta por essa pesquisa, como por exemplo nos casos com foco na atividade microbiana, do gênero *Saccharomyces* e em receitas do processo produtivo. Por entender que as leveduras não convencionais apresentam capacidade de enriquecimento sensorial, mas não tem eficiência na fermentação foi expandido o interesse por culturas mistas com *S. cerevisiae*.

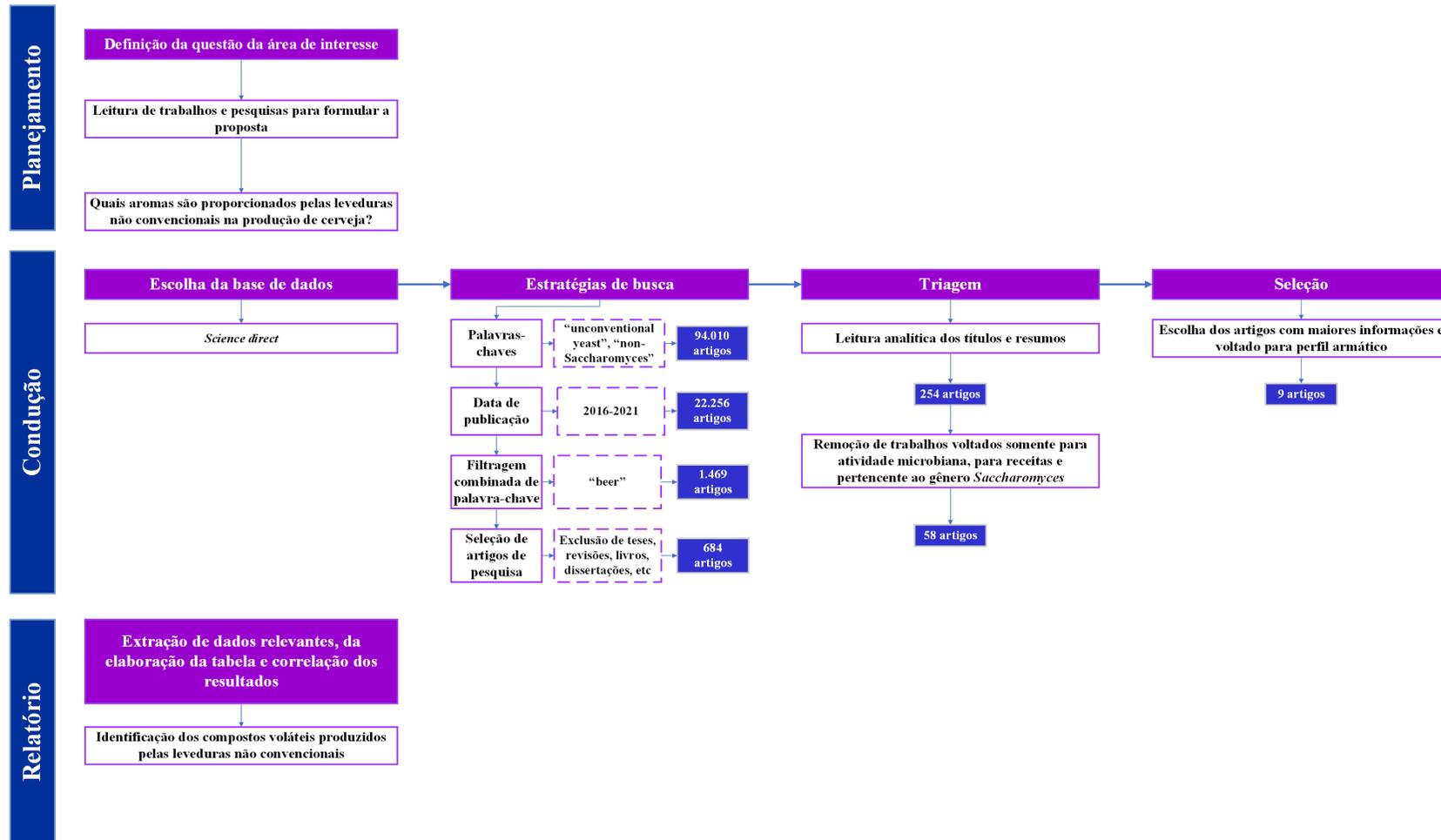
2.3 Relatório

A fase final, consiste em extrair as informações e organizar para melhor compreensão do leitor. Realizou-se a análise aprofundada que se trata da validação de dados disponíveis na pesquisa afim de obter uma relação com o objetivo e na construção de resultados (Azevedo, Silva e Maia, 2021). As análises realizadas nos artigos selecionados foram pelos seus resultados obtidos e apresentados na Tabela 2, constituída por: autores/ano de publicação, leveduras não convencionais identificadas e, compostos voláteis produzidos pelos microrganismos durante a fermentação, que interferem no aroma e sabor da cerveja. Posteriormente,

realizou-se uma discussão detalhada das características tecnológicas das leveduras não convencionais para produção de cerveja e a relação dos compostos voláteis e olências geradas por estas leveduras.

A Figura 1 mostra o fluxograma das etapas de pesquisa utilizadas neste trabalho.

Figura 1 – Fluxograma da metodologia de pesquisa.



Fonte: Autores (2022).

3. Breve Histórico da Cerveja

A teoria mais aceita sobre a origem da cerveja é remetida antes da Era Cristã, na região da Mesopotâmia, onde ocorria o cultivo de grãos. Acredita-se na produção acidental da cerveja através do armazenamento de cereais em vasos de barro que eram molhados pela chuva gerando um líquido com sabor concentrado e apreciado. A bebida fermentada atuava como moeda de troca entre as comunidades resultando na difusão para outros locais, entre eles, o Egito Antigo e Império Romano (Venturini-Filho, 2016). O emprego de técnicas rústicas na produção de cerveja aponta uma distinção de características entre a bebida preparada antigamente e a consumida mais recentemente. O aperfeiçoamento das receitas ocorria dentro dos mosteiros na Idade Média, onde os monges auxiliavam na reprodução da cultura cervejeira. A bebida era muito consumida pela classe de nobres, estrangeiros viajantes ou indigente e logo ganhou o reconhecimento popular e promoveu a profissionalização na produção em cidades (Hornsey, 2016).

Com o avanço da ciência foram surgindo descobertas propícias para o desenvolvimento da bebida. Uma delas consiste na compreensão da fermentação através dos estudos de Louis Pasteur. Com os trabalhos desenvolvidos foi constatado que a temperatura variando entre 55 °C a 60 °C proporciona a inibição do crescimento de outros organismos. O processo de pasteurização auxiliou a otimização do tempo de conservação das cervejas, estendendo para período de nove meses. Já em 1883, o famoso micologista e fisiologista dinamarquês, Emil Hansen, teve êxito no isolamento da primeira cepa de leveduras, chamando-as de *Saccharomyces carlsbergensis* (Giorgi & Júnior, 2016).

A consolidação da cerveja no mercado ganhou força com a descoberta das células de levedura e as cervejarias passaram a utilizar as espécies puras que resultaram na elevação do sabor e consistência da bebida, assim como, a mudança de caráter doméstico para industrial, através da invenção da máquina de vapor, possibilitando a fabricação em larga escala e promovendo a implantação do sistema de refrigeração, na qual mantinha a mercadoria em baixas temperaturas durante a fermentação. Tais melhorias trouxeram avanços significativos como a difusão para novos locais e conseguiram obter características semelhantes às cervejas atuais (Carvalho, et al., 2018; Giorgi & Júnior, 2016).

Segundo Venturini-Filho (2016), a cerveja chegou ao Brasil através da influência das expedições europeias, seja pela exploração das Américas com a Companhia das Índias Orientais no século XVIII, como também, mais tarde pela estadia da família real portuguesa. A bebida desconhecida foi posta para vender e acabou influenciando os costumes dos povos. Porém, houve dificuldade para obter os insumos ideais para produção, então utilizavam-se matérias-primas alternativas como milho, trigo e grão de arroz. Nesse cenário, o produto não possuía boa qualidade e adotavam técnicas de controle de fermentação precárias, como rolhas amarradas com barbantes para impedir que se soltassem originando a denominação “cerveja- barbante”.

Em 1853 inaugurava-se a primeira cervejaria no Rio de Janeiro, em Petrópolis, chamada de Bohemia. Após alguns anos a bebida era distribuída por todo território, contando com outras companhias criadas como a Brahma e Antártica. Nessa época, o desenvolvimento do setor cervejeiro estava relacionado com as regiões de concentração industrial, ou seja, Sul-Sudeste. Na década de 90, o mercado da cerveja registrou integrações verticais, aquisição de cervejarias e fusões, surgindo a Companhia de Bebidas das Américas (AmBev), mais tarde se unindo com outra empresa belga transformando-se em Interbrew (Morado, 2017; Silva, Leite & Paula, 2016).

4. Cerveja e sua Produção

De acordo com a legislação brasileira, a cerveja é uma bebida originada da fermentação alcoólica do adjunto cervejeiro (malte de cevada, milho, trigo, aveia, entre outros), da água e lúpulo, onde todos os ingredientes em conjunto promovem a ação das leveduras. A norma também lista exigências acerca da rotulagem, com objetivo de fornecer ao consumidor todas as

informações pertinentes ao consumo. O Ministério da Agricultura possui o papel de controlar, registrar e fiscalizar a produção de bebidas, incluindo cerveja, enquanto a Agência Nacional de Vigilância Sanitária enumera quais substâncias químicas e ingredientes essenciais podem/devem estar presentes. Embora exista diferentes tipos de cerveja, a maioria envolve matérias-primas base para a sua produção, logo, a compreensão do papel de cada um no processo é fundamental.

4.1 Insumos

4.1.1 Malte

O malte é o produto da germinação controlada de grãos de cereais, os quais podem ser centeios, trigo, milho, aveia, arroz, sorgo, entre outros. O cereal mais comum é a cevada, gramínea cerealífera pertencente a espécie *Hordeum vulgare*. A denominação do malte deriva da expressão germânica “meltan” tendo como tradução “amolecer”. A relação refere-se ao amolecimento do grão de cevada, resultado da técnica utilizada na produção da cerveja. A composição do malte é majoritariamente de amido, açúcar (sacarose), celulose e hemicelulose devido a estrutura do grão (Zdaniewicz, et al., 2020).

Há diferentes tipos de maltes, o mais utilizado é o de base, devido apresentar maior capacidade enzimática na transformação do amido para o açúcar. O restante do grupo formado por maltes especiais, caramelizados e torrados representam apenas 30% da conversão. Vale ressaltar que a cor da matéria-prima influencia no produto, o malte mais torrado resulta em uma cerveja de coloração mais escura e grãos menos torrados proporcionam bebidas claras e sabor similar à cereal e pão (Bogdan & Kordialik-Bogacka, 2017).

O processo de maltagem se traduz em etapas básicas: maceração ou embebição, germinação e secagem. Na primeira fase, os grãos são submersos em água para aumentar a umidade em até 45%. Nesse período é alternado intervalo para molha e em contato com ar, favorecendo a oxigenação e evitando empecilhos na próxima etapa. A troca de ambientes promove o inchaço e o amolecimento da semente. A germinação é a etapa que abrange modificações do grão, como o crescimento da radícula e plúmula (raiz e caule no estágio embrião) e integra reações complexas, incluindo a degeneração e renovação das paredes celulares (Farzaneh et al., 2017; Stewart, 2016).

Com as variações metabólicas no processo de germinação é necessário realizar o controle de um conjunto de condições operacionais, como o da umidade, temperatura, nível de oxigênio, teor de gás carbônico e o tempo. Na etapa seguinte, a secagem reduz a umidade dos grãos até 4-5% com um processo que dura entre 17 a 22 horas, onde o objetivo é cessar a atividade química e biológica a fim de evitar a degradação do grão. Também influencia nas características organolépticas da cerveja, pois depende da cor e das condições da secagem (Byeon et al., 2022).

4.1.2 Lúpulo

Antigamente o preparo da cerveja utilizava uma mistura de ervas, onde provavelmente ocorreu o destaque do lúpulo devido as atividades microbianas, porém, acabou proporcionando o sabor amargo característico da bebida. O lúpulo (*Humulus lupulus*) pertence à família *Cannabaceae*, descrita como uma planta trepadeira perene, cresce em climas temperados, de espécie dioica, ou seja, possui flores femininas e masculinas em partes separadas. Para o setor cervejeiro o que interessa é a flor fêmea, onde apresenta cones coloração amarela responsável pelo sabor e aroma da bebida (Rettberg, Biendl, Garbe, 2018).

As inflorescências da planta são constituídas de resinas (responsável pelo amargor) sendo subdivididas em duras e macias com base na solubilidade, estas com maior influência por contribuir para conservação e “flavour” devido à presença de α -ácidos e os β -ácidos. Os α -ácidos originam o sabor amargo e os β -ácidos promovem a ação bactericida. Também compõem os óleos essenciais com capacidade aromática devido à quantidade de terpenos. Além disso há ceras, proteínas e polifenóis

apresentando atividade antioxidante (Durello, Silva & Bogusz, 2019; Morcol et al., 2020).

4.1.3 Água

A água é considerada o principal ingrediente na fabricação da cerveja, já que compõe 90% do produto e está presente na maioria das etapas produtivas. Desse modo, a água necessita de tratamento adequado e eficiente para obter uma boa qualidade, de maneira que vise os principais fatores influentes na produção da bebida como: pH, alcalinidade, concentrações de compostos metálicos, concentração de minerais, padrão microbiológico e presença de subprodutos da desinfecção. Portanto, é viável que a água seja potável, livre de odores e de partículas em suspensão (Santos, et al., 2018).

Os sais apresentam grande importância na produção da cerveja, pois, o sulfato acentua o amargor do lúpulo, o cálcio e magnésio proporcionam a estabilidade e atividade das leveduras, enquanto o sódio e o cloreto afetam o dulçor da bebida. O pH adequado é o ácido, contudo não é indicado valores tão baixo para não influenciar na conversão do amido. A dureza relaciona com o sabor e a coloração do produto, o maior teor de sais resulta em bebidas mais intensas e escuras e a dureza menor originam cerveja cristalina e delicada (Anderson, et al., 2019).

4.1.4 Levedura

Compreende-se que as leveduras pertencem ao grupo dos fungos unicelulares, eucarióticos e com tamanho microscópico, tendo sido catalogadas aproximadamente 500 espécies de levedura e agrupada em 60 gêneros. As atividades que utilizam os microrganismos consistem na produção de pães, biocombustível, alimentos, vinho, destilados, suplementos, probióticos e bebidas não alcoólicas. Entretanto, poucos tipos de leveduras são explorados economicamente, entre elas, as espécies *Saccharomyces*, *S. cerevisiae* e *S. pastorianus* (Shurson, 2018).

Este importante insumo chamado de fermento ou levedura tem a capacidade de fermentar açúcares, como a glicose, frutose, sacarose e maltose presentes na solução, para transformar em álcool e dióxido de carbono, ou seja, realizar a fermentação alcoólica. Os microrganismos se diferem no processo fermentativo, em que, leveduras com tendência a subir até a superfície são de alta fermentação (ale) e caso se depositem no fundo são classificadas de baixa fermentação (lager), além de não suportar temperaturas acima de 22°C. A seleção de leveduras é fundamental para qualidade da bebida e para criar um perfil de sabor característico, através da formação de subprodutos desejáveis ou não (Lauterbach, et al., 2017).

O setor que mais aproveita a diversidade da levedura é a indústria de bebidas, com destaque para área cervejeira. O uso desses microrganismos associa-se ao processo fermentativo, pois é a etapa essencial para produção de cerveja. A espécie *Saccharomyces cerevisiae* representa a estirpe mais conhecida e utilizada, devido à sua fisiologia na qual garante maior rendimento, alta tolerância ao etanol, desenvolvimento acelerado e ocorre por via metabólica. Apesar das suas qualidades, o mercado se desenvolveu e expandiu, necessitando explorar o potencial das leveduras e obter produtos inovadores (Gibson, et al., 2020).

4.2 Processo produtivo

A etapa inicial consiste na moagem dos grãos do cereal para romper a casca do malte e expor o material amiláceo do interior, onde a redução do tamanho pode ser realizada por moinhos de rolos, de martelo ou de discos. Deve-se controlar a granulometria para não obter um produto fino que cause a obstrução de equipamentos e nem grosso pra dificultar reações enzimáticas. Dentro de um tanque os grãos moídos são misturados com água pré-aquecida (62°C) para iniciar as reações bioquímicas (Yin, et al., 2021).

Na mosturação as enzimas presentes na solução são ativadas e realizam a hidrólise do amido para obter açúcares fermentáveis, formando o líquido adocicado chamado mosto. As enzimas responsáveis são α -amilase e β -amilase, onde a primeira resulta na maior concentração de dextrina (açúcares de cadeia maior) sob temperaturas mais elevadas resultando em cervejas mais encorpadas e a segunda, forma-se a glicose, frutose e maltose (açúcares de cadeia menor) em temperaturas mais brandas que levará à bebidas mais leves (Buiatti, Guglielmotti & Passaghe, 2021).

Terminada a mosturação é necessário realizar a filtração para separar a matéria sólida (bagaço do malte) e o líquido (mosto cervejeiro), podendo realizar a recirculação para obter maior eficiência. O aquecimento do mosto é essencial para garantir a qualidade de cerveja, onde o lúpulo é adicionado no início e final do processo a fim de proporcionar o amargor e aroma, respectivamente. Nesse estágio ocorre a estabilidade bioquímica, biológica e coloidal do mosto devido a promover a inativação das enzimas e microrganismos, evaporação de substâncias indesejadas, precipitação de compostos floculantes e assim eliminando qualquer contaminação possível que possa interferir nas características da cerveja (Harrison & Albanese, 2017).

Com o mosto mais concentrado é realizado o seu resfriamento para evitar a oxidação, reativação das leveduras e a formação do dimetil sulfeto, sendo este um *off-flavour* (sabor não desejável) devido ao aspecto rançoso. Em seguida é iniciada a fermentação, o mosto recebe as leveduras que converte açúcares em CO₂ e etanol. O tempo do processo fermentativo dependerá do tipo de cerveja, para lagers dura entre 5 e 7 dias com a temperatura variando de 7°C a 14 °C e para ales apenas de 3 a 5 dias com a faixa de temperatura de 15 °C a 20 °C (Michel, et al., 2016).

Após a remoção do fermento, ocorre a maturação em baixa temperatura e durante 72 horas. Nessa etapa é possível adicionar outros ingredientes, como ervas ou especiarias dependendo da receita escolhida. Os objetivos da maturação são a redução de ácido sulfídrico, acetaldeído e teor de diacetil que são responsáveis pelo sabor desagradável, além de promover a estabilidade coloidal e a sedimentação dos microrganismos residuais. As demais leveduras consomem os resíduos de carboidrato realizando a fermentação secundária. A maturação pode ocorrer entre 6 e 30 dias, dependendo do tipo de cerveja fabricada (Kucharczyk & Tuszynski, 2017).

A gaseificação da cerveja é realizada na fase da carbonatação, em que é gerada uma quantidade de gás carbônico. A carbonatação pode ser forçada pela injeção de gás diretamente no recipiente com a cerveja ou com método *priming* onde adiciona-se açúcar para fermentar novamente. É uma etapa importante para promover características organolépticas da bebida e desacelerar a proliferação de bactérias com capacidade de reduzir a validade do produto. A armazenagem das cervejas deve permanecer em temperaturas em torno de 2 °C (Lentz, 2018).

4.3 Perfil aromático da cerveja

A análise das características organolépticas da cerveja é uma das formas para avaliar as características e qualidades do produto. Logo, o mercado busca inovar trazendo maior complexidade sensorial, já que as bebidas tradicionais apresentam diversidade perceptuais reduzida. Os atributos sensoriais são baseados nos sistemas de paladar, olfativo e visual, ou seja, as primeiras percepções de avaliação dos consumidores (de Paulo et al., 2022). Segundo Sannino et al. (2019) a estrutura do aroma e os componentes que proporcionam particularidades da bebida são os álcoois, ésteres, aldeídos e ácidos orgânicos. Entre os atributos que podem ser observados estão a aparência, aroma, sabor e textura, como apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 - Características comuns da cerveja.

Aroma	Alcoólico Cheiro maltado derivado do malte da cevada Notas amadeiradas, críticas e picantes devido ao lúpulo
	Frutado
Sabor	Alcoólico
	Maltado
	Residual de cerveja característico do produto
	Doce
	Frutado
Textura	Amargo
	Percepção de subprodutos da carbonatação
	Ácido, acético
Textura	Encorpado devido a densidade sentida na degustação
Aparência	A cor característica varia de amarelo vivo a amarelo escuro
	A turbidez consiste na preferência a transparência sem partículas visíveis Uniformidade no tamanho da espuma

Fonte: Adaptado de Mello & Silva (2020).

Mello & Silva (2020) investigaram quais características eram mais relevantes sob o ponto de vista dos consumidores. A pesquisa apontou o aroma, sabor e textura sendo fundamentais na cerveja e ainda relevou que atributos como “sabor alcoólico”, “acidez”, “adocicado” e “aroma de álcool” não eram desejáveis no produto, tornando-se menos atraente. Outro dado pertinente foi o aumento da importância do aroma tanto quanto a gustação e o preço, evidenciando o desejo de ter percepções mais complexas na cerveja produzida.

O aroma pode ser originado pela matéria-prima utilizada, como o malte e lúpulo, o modo como é desenvolvida a fermentação, metabolismo da levedura e o período de maturação da cerveja. Os principais compostos voláteis responsáveis pelo cheiro da bebida, também chamados de compostos carácter-impacto, são grupos aromáticos, alifáticos, ésteres, álcoois, aldeídos, hidrocarbonetos, cetonas, terpenos, entre outros. Tais substâncias são denominadas de termolábeis devido a ter a sensibilidade ao calor e se decompõem caso não armazenada na faixa de temperatura correta (Larroque et al., 2021; García et al., 2021).

Ripari et al. (2018) revelam que a fermentação alcoólica produz muitos produtos e subprodutos responsáveis pelo aroma final, isso pode ser explicado pela atividade metabólica da levedura. O trabalho realizado por Benucci et al. (2021) discute a forma como a levedura é adicionada ao processo de produção da cerveja, implicando na geração de níveis distintos de compostos voláteis. Com as informações disponíveis para otimização do aroma das cervejas, são utilizados microrganismos selvagens, ou seja, não convencionais para enriquecer as propriedades da bebida.

5. Leveduras não Convencionais

Com a modernidade, as leveduras não convencionais foram conseguindo espaço entre fabricantes e apreciadores de cervejas artesanais. Antigamente, acreditava-se que as não-*Saccharomyces* eram responsáveis pela deterioração das bebidas, porém, novos estudos indicaram apenas um rendimento reduzido e menor tolerância ao etanol em comparação com a *S. cerevisiae*. Por outro lado, as leveduras não convencionais proporcionam o enriquecimento da cerveja em relação ao aroma e sabor, devido à produção de álcoois superiores, ésteres e fenóis voláteis, ácidos carboxílicos e derivados de enxofre (Basso,

Alcarde & Portugal, 2019; da Silva et al., 2022).

As leveduras não convencionais podem ser encontradas antes da fermentação, como nos estágios de maturação e colheita das matérias-primas envolvidas no processo. Sua diversidade é influenciada pela localização geográfica, clima (temperatura, precipitação), presença de pesticidas ou fungicidas e modo de conservação. Entre as espécies de leveduras não convencionais, destaca-se a *Brettanomyces bruxellensis* e *Torulaspota delbrueckii* com melhor aroma para produção de cerveja. A *Hanseniaspora guilliermondii* é indicada para fermentação em cultura mista com a *S. cerevisiae*. Outras também aparecem como a *Torulaspota delbrueckii*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Candida zemplinina*, *Pichia* spp., *Hanseniaspora suaveolens*. e muitas outras (Varela, 2016). Diante da diversidade, torna-se importante o estudo da origem, comportamento e efeito de cada levedura.

5.1 *Torulaspota delbrueckii*

Antigamente se denominava *T. rosei* ou *T. fermentati*, sendo encontrado em frutas, solo, casca de árvores, suco de frutas vermelhas e no malte, onde a presença varia de 4% em alimentos e 6% em frutas e bebidas. Pertencente à família *Saccharomycetaceae*, as espécies de *Torulaspota* apresentam células na forma esférica ou elipsoidal. Do ponto de vista fisiológico e bioquímico, tais leveduras fermentam a glicose, frutose, sacarose e outros açúcares, porém, dependendo da cepa pode haver uma limitação na assimilação da maltose. Nessa situação, a fermentação se resulta em cervejas de baixo teor alcoólico (Michel, et al., 2016; Benito, 2018).

5.2 *Brettanomyces*

Em 1904, no Laboratório de Pesquisa Carlsberg o cientista dinamarquês Niels Hjelte Clausen obteve êxito no isolamento da levedura, chamando-a de *Brettanomyces clausulanii*. A sua presença foi observada em cervejas inglesas e belgas, mas também podem ser encontradas em cascas de frutas, refrigerantes, chás, azeitonas, recipientes de madeira e kombucha. As leveduras *Brettanomyces* são responsáveis por sabores exóticos a bebida, contudo, caso manipulada de forma incorreta pode gerar um perfil sensorial desagradável. Entre as espécies mais comuns estão *Brettanomyces bruxellensis* e *anomalous*. O metabolismo é favorecido na presença de glicose e por se caracterizar como uma fonte de carbono, também apresentam facilidade em assimilar monossacarídeos, dissacarídeos e trissacarídeos. Logo, acaba sendo indicada para reagir com açúcar residual e produzir uma cerveja de baixa caloria (Smith & Divol, 2018; Colomer, Funch, Forster, 2019).

5.3 *Hanseniaspora*

Considerada como uma levedura de grande potencial na cerveja devido a possibilidade de desempenhar diferentes papéis durante a produção. Se apresentam na forma oval ou esférica, quando são cepas jovens, e são encontradas principalmente em frutos. Como qualidade destaca-se a preservação das propriedades morfológicas e fisiológicas dos vários tipos encontrados, apesar de um armazenamento inadequado. Contudo, optam somente pela glicose como fonte de carbono que acaba limitando suas fontes (Has, et al., 2016).

A levedura apiculada *H. uvarum* é mais comum em frutos maduros e particularmente nos bagos das uvas, suco de caju e cana-de-açúcar, além de participar na produção do iogurte (Albertin, et al., 2016). Segundo Yan et al. (2020) a espécie *H. vineae* produz vários compostos aromáticos como acetado de 2-feniletila e acetato de etila, responsáveis por acentuar o sabor durante a fermentação, principalmente em culturas mistas. Contudo, a característica peculiar entre o gênero *Hanseniaspora* consiste na dificuldade em isolar a levedura do fruto. Outro tipo muito encontrado é a *H. guilliermondii*, na qual formam-se

colônias convexas e lisas. Sua origem ocorre na fermentação espontânea, tendo maior concentração nos estágios iniciais e reduz com o passar do tempo, que pode ser explicado pela sensibilidade ao etanol.

6. Resultados e Discussão

Os resultados obtidos referente ao tema estão expostos na Tabela 2, em que estão os nove artigos selecionados e organizados a partir de seus autores/ano de publicação, as leveduras não convencionais identificadas e, os compostos voláteis produzidos pelos microrganismos durante a fermentação.

Tabela 2 - Artigos selecionados com respectivas leveduras não convencionais e seus compostos voláteis.

Autores/Ano	Leveduras não convencionais identificadas	Principais compostos voláteis
Canonico et al. (2016)	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	2-Feniletanol, butirato de etila, acetato de isoamila, hexanoato de etila, octanoato de etila e fenil etil acetato
Michel et al. (2016)	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	Álcoois amílico, 2-feniletanol, acetato de etila, i-butanol, n-propanol e diacetil
Holt et al. (2018)	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	4- vinil guaiacol (4VG)
	<i>Pichia anomala</i>	Acetato de etila e 4-vinil guaiacol (4VG)
	<i>Pichia kluyverii</i>	Acetato de isoamila e acetato de etila
	<i>Pichia kudriavzevii</i>	Acetato de etila
	<i>Brettanomyces naardenensis</i>	Acetato de etila e 4-vinil guaiacol (4VG)
	<i>Brettanomyces bruxellensis</i>	Acetato de isoamila, acetato de etila, 4-vinil guaiacol (4VG), 4-etil fenol (4EP), 4-etil guaiacol (4EG), decanoato de etila, octanoato de etila, ácido acético, acetato de isobutila e acetaldeído
	<i>Zygorulaspora florentina</i>	4-vinil guaiacol (4VG) e decanoato de etila
Toh, Chua & Liu (2018)	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	Álcool isoamílico, 2-feniletanol, ácido octanóico, ácido-9-decenoico, octanoato de etila e decanoato de etila
Bourbon-Melo et al. (2020)	<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	Álcool isoamílico, acetato de etila, 2-feniletanol, ácido acético, isobutanol, etil hexanoato, acetato de isoamila, diacetil e octanoato de etila

(continua)

	<i>Hanseniaspora guilliermondii</i>	Álcool isoamílico, acetato de etila, 2-feniletanol, ácido acético, isobutanol, etil hexanoato, acetato de isoamila e octanoato de etila
Larroque et al. (2020)	<i>Pichia anomala</i>	Hexanoato de etila, octanoato de etila, 4-vinil guaiacol (4VG) e acetato de isoamila
	<i>Zygoascus meyeræ</i>	Álcool isobutil, 2-feniletanol e 4-vinil guaiacol (4VG)
Johansson et al. (2021)	<i>Torulaspota delbrueckii</i>	Álcool isoamílico, propanol e 2-metilpropanol
	<i>Pichia kudriavzevii</i>	Acetato de etila, octanoato de etila e álcool isoamílico
	<i>Pichia fermentans</i>	Acetato de etila, octanoato de etila, 4-vinil guaiacol (4VG), álcool amílico, álcool isoamílico, 2-feniletanol, 2-metilpropanol e acetaldeído
	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	Álcool amílico, álcool isoamílico, isobutanol, 2-metilpropanol, fenilacetaldeído, 2-feniletanol e 3-metilbutanal.
	<i>Kazachstania servazzi</i>	Álcool isoamílico, 3-metilbutanal, 2-metilpropanol, 2-metilbutanol, acetato de etila, metional, acetato de 3-metilbutila e acetato de fenetila
Matraxia et al. (2021)	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	Isobutanol, álcool isoamílico, propanol
Tan et al. (2021)	<i>Saprochaete suaveolens</i>	Acetato de isoamila, ácido isovalérico, álcool isoamílico, 2-metil butanoato de etila, acetato de isobutila, acetato de 3-metilbutil, acetato de 2-metilpropil e acetato de 2-feniletal

(conclusão)

Fonte: Autores (2022).

6.1 Características tecnológicas das leveduras não convencionais para produção de cerveja

6.1.1 *Torulaspora delbrueckii*

Devido a levedura *Torulaspora delbrueckii* ser um dos microrganismos que se encontra naturalmente nos ambientes, é compreensível a sua presença na maioria das produções de cerveja com leveduras não convencionais. Em Michel et al. (2016) a cepa foi investigada em cultura pura, mas cultivada em meios diferentes, como por exemplo em vinho, aguardente de sorgo, salmoura de queijo, entre outros. Já em Canonico et al. (2016) e Toh, Chua & Liu (2018) foram investigadas leveduras em fermentação mista, ou seja, inoculada com *S. cerevisiae*.

Michel et al. (2016) utilizando apenas a cepa demonstrou seu crescimento sem qualquer interferência de outra levedura, enquanto Canonico et al. (2016) e Toh, Chua & Liu (2018) envolvendo culturas mistas, revelaram a modificação do comportamento no processo de fermentação. O estudo dos pesquisadores revelou que na proporção de 1:1 de *S. cerevisiae* e da *T. delbrueckii*, respectivamente, não causa nenhuma competição entre os microrganismos. Contudo, quando a levedura não convencional se encontra em maior quantidade (<1:10) é causada a competição e ocasiona a morosidade do processo.

O comportamento competitivo é visto na produção de vinhos, em Zhang et al. (2018) observação a competição nutricional entre a *T. delbrueckii* e *S. cerevisiae* que influenciou negativamente no crescimento individual das cepas. Também foi identificada a redução da levedura não convencional em dois dias de fermentação. A interrupção do crescimento da *T. delbrueckii* é causada pela alta disputa espacial e da significativa taxa de consumo de açúcares e de fontes nitrogenadas (Escribano-Viana et al., 2022; Tronchoni et al., 2017).

Os autores investigaram as linhagens de *T. delbrueckii*, onde pelo ao menos uma apresentou eficiência e apontaram semelhança quanto a assimilação de açúcares. Canonico et al. (2016) e Toh, Chua & Liu (2018) conseguiram fermentar glicose, sacarose e maltose, enquanto Michel et al. (2016) teve êxito no consumo até de maltotriose. É importante a conversão de açúcares complexos principalmente em culturas puras de leveduras não convencionais. Contudo, o teor alcoólico na cerveja produzida foi baixo quando comparado com o das bebidas produzidas por *S. cerevisiae*.

Investiga-se a assimilação de açúcares com a finalidade de compreender a capacidade de fermentação. Em leveduras não convencionais, como a *S. cerevisiae*, o consumo de glicose e malte é mais comum. No entanto, as linhagens de *T. delbrueckii* apresentam comportamentos diferenciados, algumas cepas têm êxito na conversão da maltose, outras não. O fenômeno pode ser explicado pela preferência em metabolizar prioritariamente a glicose e acumular açúcar dos cereais, até mesmo reprimir a assimilação do composto. Vale ressaltar que tal reação pode ser influenciada pela indisponibilidade de nutrientes ou pelo estresse sofrido nos microrganismos (Li et al., 2019).

Em Johansson et al. (2021) a cepa de *T. delbrueckii* não foi selecionada para maiores estudos devido ao mínimo crescimento durante o teste de estresse. No ensaio, as culturas eram submetidas a variação de temperatura até atingir 37 °C, no qual não obteve êxito. As leveduras também não indicaram resistência quando o nível de etanol aumentou na bebida, porém, a sensibilidade alcoólica não foi observada em Michel et al. (2016). A diferença entre eles é explicada pelo cultivo da espécie em diferentes habitats, causando assim fermentações distintas, todavia, o mais comum é a tolerância limitada ao etanol (Bourbon-Melo et al., 2020).

6.1.2 *Pichia spp.*

Os estudos da levedura do gênero *Pichia* foi investigado por Holt et al. (2018) que selecionou três espécies, dividindo em duas linhagens de *P. anomala* (Pan₁ e Pan₂) cultivada em xarope de bordo e fermentação de cacau. Neste ambiente também foi originada duas cepas de *P. kluyverii* (Pkl₁ e Pkl₂) e a terceira (Pkl₃) em vinho dinamarquês comercial. Por fim, a *P. kudriavzevii* (Pku₁ e Pku₂) foi retirada em fermentação de cacau e cerveja de gengibre.

Nas fermentações das leveduras *Pichia spp.* foi observada a formação de uma capa aeróbica na superfície, semelhante a uma película, no qual supôs que era produção de biomassa e o desenvolvimento de sabor da bebida. Contudo, segundo Perpetuini et al. (2018) o gênero é considerado como “leveduras de filme” devido a promover uma camada, principalmente na produção de vinho. A formação do biomaterial pode afetar a qualidade do produto e atuar como foco de contaminação, portanto não configurando um aspecto positivo dos microrganismos.

O menor teor de álcool nas cervejas foi observado em Larroque et al. (2020), Johansson et al. (2021) e Holt et al. (2018). Nestes últimos, as cepas Pkl₁ e Pkl₂ produziram níveis baixos de etanol, consequentemente deixando glicose residual após o processo de fermentação, diferentemente em Larroque et al. (2020), em que as culturas de *Pichia anomala* apresentaram sucesso na assimilação de maltose. Este resultado é contraditório devido a existência de autores que indicam a incapacidade de metabolizar a maltose, como visto em Lai et al. (2022) utilizando três cepas de *P. kluyverii* (Karaoglan et al., 2022).

Na pesquisa de Johansson et al. (2021) o microrganismo não teve sucesso na redução dos aldeídos de cadeia ramificada, alcançado apenas 10% do grupo. Também apontaram maior resistência ao etanol, além da *P. kudriavzevii* apresentar tolerâncias à elevação de temperatura e tendo maior desempenho quanto ao crescimento, contudo não foi observado o mesmo comportamento para *P. fermentans*. Em Ndubuisi et al. (2020) as cepas de *P. kudriavzevii* indicaram ser resistentes ao etanol e termotolerantes, revelando um eficaz crescimento com temperatura chegando em 42 °C, já para Chamnipa et al. (2018) mantiveram o desempenho em 45 °C.

6.1.3 *Hanseniaspora spp.*

As cepas de *Hanseniaspora* foram estudadas por Bourbon-Melo et al. (2020) que utilizaram as espécies *Hanseniaspora guilliermondii* e *Hanseniaspora opuntiae* e por Matraxia et al. (2021) com a cultura de *H. uvarum*. Em ambos artigos foram relatados a presença de açúcares residuais, onde as culturas isoladas do gênero não fermentassem a maltose. O consumo de fontes de carbono foi investigado por Cadez et al. (2019) que envolveram sete espécies de *Hanseniaspora*, em que nenhuma teve sucesso na assimilação de maltose.

O crescimento das cepas em meio alcoólico foi distinto nos artigos e somente a *H. uvarum* apresentou maior tolerância em um meio contendo 10% v/v de etanol. Por outro lado *H. opuntiae* e *H. guilliermondii* não tiveram melhor desempenho quando a solução indicou teor de 0,5% v/v. Segundo Martin et al. (2018) o gênero tem baixa resistência ao etanol, devido ser cultivado em suco de uva, no qual observam-se baixas concentrações de álcool etílico, logo, não se caracterizando por ser um meio adequado para o seu desenvolvimento, todavia a característica pode variar de acordo com a linhagem da cepa (Araújo, et al. 2016).

6.1.4 *Brettanomyces spp.*

As espécies *Brettanomyces naardenensis* e *Brettanomyces bruxellensis* foram utilizadas em Holt et al. (2018), e as fermentações de ambas as cepas não produziram níveis de etanol significativos. Observou-se que a cepa de *B. bruxellensis* em conjunto com a *S. cerevisiae* causou uma fermentação estagnada e consequentemente quantidades residuais de açúcares, como a maltose. Outra informação relevante consiste nas fontes de cultivo das cepas, em que o estudo utilizou locais distintos, sendo uma oriunda da deterioração de vinho, na qual apresentava indisponibilidade de nutrientes para formação de outras substâncias. Segundo Tywara et al. (2019) o gênero metaboliza diferentes taxas de açúcares, em ritmo mais lento e tendem a ter desempenhos distintos quando deterioradas.

6.1.5 *Zygorulaspota florentina*

O microrganismo empregado em Holt et al. (2018) apresentou uma surpreendente eficiência para produção de etanol, com 4,0 % ABV, sendo uma performance diferencial entre as leveduras não convencionais. A razão pelo êxito foi a fermentação significativa da maltose em apenas três dias, sendo também um comportamento inesperado entre esse tipo de levedura. No trabalho de Nikulin et al. (2020) sobre a levedura *Z. florentina* cultivada em carvalho obteve 5,38% ABV. Porém, o desenvolvimento em cultura mista apontou para uma atividade intermediária, além da conversão alcoólica ser mais lenta nas fermentações sequenciais que pode ser explicado pela inibição da *S. cerevisiae*.

6.1.6 *Kazachstania servazzi*

Os estudos de Johansson et al. (2021) mostraram a sensibilidade ao etanol durante os testes de estresse, obtendo apenas 0,73% de ABV durante 6 dias de fermentação. Por outro lado, demonstrou resistência ao frio, configurando um aspecto positivo para seu uso industrial com a finalidade conservar a estabilidade microbiológica durante a linha de produção. Outro ponto importante é a capacidade de crescimento acima de 37 °C, porém, o comportamento auxilia na redução da patogenicidade da espécie. Tais características podem estar relacionadas com a escala evolutiva, pois o gênero pertence à família *Saccharomycetaceae*. As leveduras convencionais apresentam estabilidade e tolerância à variação de temperatura (Lin et al., 2022).

6.1.7 *Zygoascus meyeri*

A espécie estudada por Larroque et al. (2020) apresentou duas cepas que resultaram em fermentações distintas, onde somente uma conseguiu fermentar maltose. A investigação realizada por Nagatsuka et al. (2016) com diferentes espécies da *Zygoascus* apontou para não fermentação de maltose por *Z. biomenbranicola* e *Z. polysorbophila*., com somente uma cepa assimilando o açúcar. Tal fenômeno ocasiona a baixa produção de etanol, sendo indicada a combinação com *S. cerevisiae* e para produção de cervejas sem álcool.

6.1.8 *Saprochaete suaveolens*

O estudo da levedura não convencional em monocultura apresentou baixo desempenho na fermentação e consequentemente menor teor alcoólico (1,2% ABV). O aumento da produção de etanol foi otimizado com apenas 10% de *S. cerevisiae* obtendo 6,34 ABV. Apesar da melhora na fermentação alcoólica, observa-se a influência do aumento da proporção de *S. suaveolens* que causou a diminuição do consumo de açúcar, demonstrando assim a variação no teor de etanol. A conversão de maltose e sacarose pela espécie foi limitada em decorrência da diminuição da velocidade, porém, é inesperado o consumo desses açúcares devido à preferência em assimilar prioritariamente monossacarídeos, como a glicose e frutose. Tal limitação das monoculturas da *S. suaveolens* é benéfico quando o objetivo é a produção de bebidas e baixo teor alcoólico e aromáticas.

6.2 Relação dos compostos voláteis e a olência das cervejas

6.2.1 *Torulaspota delbrueckii*

Em Toh, Chua e Liu (2018) as cervejas de fermentação isolada e mista produziram maiores quantidades de álcool, principalmente de etanol, seguido de 2-fenil etanol e álcool isoamílico, remetendo as notas de florais, doces e alcólicas. Para estudos com as cepas combinadas com a levedura convencional houve a identificação de ácidos graxos, como ácido octanóico conferindo aroma rançoso ou gorduroso e ácido-9-decanoico conferindo odor ceroso (Da Conceição et al., 2020; de Araújo et

al., 2016). No trabalho observou-se ésteres etílicos como octanoato de etila, decanoato de etila e etila-9-decanoato originando olência de doce, de conhaque ou frutado e floral (de Araújo et al., 2016).

Outro trabalho que apresentou quantidades majoritárias de álcoois superiores, principalmente de álcool amílico corresponde ao estudo das cepas de Michel et al. (2016) que revelou a quantidade de 64,83 mg. L⁻¹. A concentração fica acima das cervejas do tipo OBB (*original Bitter beer*) com 37,19 mg. L⁻¹. O estilo *Bitter* revela odor frutado e notas baixas a fundas de lúpulo (Liguori, et al., 2016). A predominância do álcool amílico proporciona um aroma alcoólico, semelhante a conhaque ou até mesmo de solvente. Caso o 2-metil-1-butanol esteja em maiores quantidade ou acima de 156 mg. L⁻¹ pode interferir em outras substâncias aromáticas presentes na bebida (Stewart, 2017; Neves & Stringheta, 2021).

Em Michel et al. (2016) observa-se a presença do diacetil acima do limiar (0,1 mg. L⁻¹) produzindo um aroma amanteigando ou semelhante a pipoca que pode não ser convidativo aos degustadores. O composto é indesejado devido à associação com contaminação da cerveja por bactérias prejudicando o consumo, saúde do consumidor e influenciar no armazenamento em decorrência da variação da estabilidade do produto. Contudo é observada a preferência em estilos de cerveja como a “Bohemian Pilsner” (Ribeiro et al., 2021; Souza & Favero, 2017).

Michel et al. (2016) e Canonico et al. (2016) produziram álcoois como 2-feniletanol, i-butanol e n-propanol. A presença de tais compostos dá um buquê sensorial diferenciado originando aroma de rosas, adocicado e alcoólico. O segundo os pesquisadores, registra a produção de ésteres como o acetato de isoamila (aroma frutado de banana), acetato de fenetila (aroma floral e frutado), hexanoato de etila (aroma de maçã) e octanoato de etila (aroma frutado e doce), este também observado no trabalho de Toh, Chua e Liu (2018) (Liguori, et al., 2016).

Em Holt et al. (2018) destacou a capacidade de produzir 4-vinilguaiacol (4VG) de forma enzimática com a levedura não convencional *T. delbrueckii*, onde o mesmo fenômeno pode ser observado nas cervejas de trigo. O microrganismo se destacou entre os demais pela conversão em grandes quantidades do composto fenólico, conhecido como ácido ferúlico (AFC), em 4GV em apenas 72 horas. Tal reação tem atividade POF+ (*phenolic off-flavor positiva*), ou seja, remete a uma característica sensorial negativa à bebidas tradicionais (Diderich et al., 2018). Entretanto, só neste trabalho foi observada a produção significativa de 4VG em fermentação isolada, supondo que seja característica da cepa selecionada (Postigo, Schuurman & Arroyo, 2022).

Entre as espécies de leveduras testadas por Johansson et al. (2021), a *T. delbrueckii* impactou apenas na redução dos aldeídos de cadeia ramificada em 24 horas. O aldeído é formado nos primeiros três dias de fermentação, e a sua presença em excesso origina a “cerveja verde” caracterizada pela cor e sabor indesejáveis. As ramificações dos compostos trazem um caráter mais recalcitrante que causa a sua permanência até a etapa final do processo, logo a sua diminuição em 90% corresponde a um aspecto positivo.

6.2.2 *Pichia spp.*

Em Holt et al. (2018) observou-se que todas as espécies de *Pichia* produziram altos níveis de ésteres de acetato, porém somente a *P. kluyverii* obteve níveis de acetato de isoamila e acetato de etila 19 a 31 vezes superiores à levedura *S.cerevisiae*. Já *P. anomala* e *P. kudriavzevii* se destacaram pela produção de grandes quantidades de acetato de etila. Em Johansson et al. (2021) as leveduras *P. fermentans* também se destacaram pela produção de ésteres no mosto, como o acetato de etila e octanoato de etila. Nos experimentos de Larroque et al. (2020) a *P. anomala* apresentaram resultados que indicaram a presença de hexanoato de etila, octanoato de etila, acetato de isoamila e 4VG.

Na avaliação de aromas nos estudos de Holt et al. (2018) e Larroque et al. (2020), o nível de acetato de isoamila produziu o cheiro e sabor da banana, sendo um composto desejável nas fermentações da cerveja. A concentração de acetato de etila

proporciona uma característica negativa que remete ao aroma de solventes. Notas de banana e melão foram encontradas em Johansson et al. (2021), contudo é observada a liberação de terpenos de lúpulo ligados a glicosídeos (Li et al., 2020). Ao passo que a presença de hexanoato de etila e octanoato de etila origina aroma de frutado e doce, respectivamente (Zheng et al., 2016).

O composto fenólico 4-vinilguaicol foi observado em Johansson et al. (2021), apresentando níveis diferentes em Holt et al. (2018) e em Larroque et al. (2020). O segundo autor relatou que a levedura foi POF+, mas, produziu quantidades intermediárias, já a outra pesquisa apontou teores altos a ponto de ser perceptível durante o consumo da cerveja. A substância caracteriza a bebida com aroma de cravo, alguns consumidores consideram um aspecto positivo e desejável na produção de cervejas weiss e saison (Karaoglan et al., 2022).

Observa-se a presença de álcoois superiores tanto na *P. fermentans* e em *P. kudriavzevii* promovendo notas alcoólicas, na qual é realçada com a presença de 2-metilpropanol em Johansson et al. (2021), diferenciando com o álcool fenetílico com aroma de rosas e do acetaldeído com odor de folhas e frutas. Em geral, o gênero *Pichia* produz substâncias com perfil aromático desejável e inovador, com atributos muito conhecidos na produção de vinho e outras bebidas, principalmente pela produção de compostos voláteis, como observado nos estudos enológicos de Zhong et al. (2021).

6.2.3 *Hanseniaspora spp.*

Em Johansson et al. (2021) a *Hanseniaspora uvarum* isolada produziu álcoois superiores, como o álcool amílico e isoamílico conferindo aromas alcóolicos, sendo acentuado pela presença do isobutanol. O diferencial sensorial é conferido pelo 2-metilpropanal, feniletanal, álcool fenetílico e do 3-metilbutanal por prover olências florais, gramínea, rosas, de banana e maçã. Porém, os compostos se apresentam em menor quantidade, deixando a sensação alcoólica mais evidente e o fundo floral e frutado (Chen et al. 2022; Lin et al. 2019; Liguori et al. 2016).

Matraxia et al. (2021) realizou diferentes experimentos em cultura mista com *S. cerevisiae* e somente na proporção de 1:1 trouxe maiores características sensoriais benéficas a cerveja. Os autores utilizaram levedura *H.uvarum* derivada da fermentação sequencial, cuja finalidade é aprimorar atributos e obter qualidade, complexidade e intensidade no perfil olfativo. Tal alternativa consiste em um método para evitar interações negativas e otimizar condições favoráveis para o microrganismo (Lu et al., 2018).

Desse modo, observou-se que o aumento da proporção do microrganismo não convencional impactou em características sensoriais semelhantes a álcool ou a solvente. Os aromas eram derivados da produção de 3-metil-butanol, 2-metilbutanol e isobutanol. Após a técnica identificou-se percepções mais doces, de mel ou caramelo que estão associadas com a presença de açúcares presentes, como a maltose. Todavia, o artigo não cita possíveis aumentos de outros compostos voláteis aromáticos, podendo-se presumir que seriam os elementos diferenciais visto em Matraxia et al. (2021).

Bourbon-Melo et al. (2020) também realizaram a fermentação sequencial e em escala que aumentaram a quantidades de compostos do aroma em ambas as cepas estudadas, *H. guilliermondii* e *H. opuntiae*. A primeira fermentação de *H.g* produziu mais ésteres superiores, com destaque para o acetato de etila e álcool fusel, como o 3-metilbutanol, já para *H.o* foi o contrário. Na segunda fermentação a quantidade dos compostos aumentou, com destaque para o acetato de etila que ultrapassou a quantia produzida pela *S. cerevisiae* isolada. Também apareceram o acetato de isoamila, isobutanol e ácido acético. Nessa etapa o aroma frutados e alcoólico foram mais acentuados.

As cepas de *H. guilliermondii* e *H. opuntiae* também foram investigadas em combinação com a levedura convencional. As substâncias que se destacaram por ultrapassar as quantidades produzidas pela *S. cerevisiae* foram: álcool isoamílico, acetato de isoamila, acetato de etila, isobutanol, álcool fenetílico e ácido acético, este não desejável pelo aroma avinagrado. Outros ésteres que aparecem em ambas as cepas são o hexanoato de etila e o octanoato de etila. Em ambas as culturas foram relatados

o aroma floral, frutado e doce, semelhante ao mel. Não foram observadas mudanças significativas na fermentação sequencial e em escala.

A análise sensorial de *H. opuntiae* apontou para aroma de amanteigado devido à presença do diacetil que pode ser um composto indesejável devido ao sabor rançoso, também observado no trabalho de Gamero et al. (2016) em altas concentrações para o mesmo gênero. Para *H. guilliermondii* a percepção foi negativa com a descrição de cheiro de enxofre, o que pode ser consequência da presença de enxofre originado durante a fermentação pela levedura.

6.2.4 *Brettanomyces* spp.

A quantificação de ésteres de acetato apontou para quantidades intermediárias de acetato de etila, parte das cepas de *Brettanomyces naardenensis*. A transformação do ácido ferúlico em 4-etilfenol (4EP) e 4-etilguaicol (4EG) foi observada somente na *B. bruxellensis*, sendo POF+. Apenas após 72 horas foi possível detectar 4-vinilguaicol (4VG) apontando para seu aumento em ambas as culturas, além de apresentar a ultrapassagem do limite sensorial para 4EP. Nessa reação a cepa *B. bruxellensis* derivada da deterioração do vinho não obteve um bom desempenho, no entanto, é indicada para cervejas nas quais as notas fenólicas condimentadas e picantes são desejáveis (Lobo et al., 2016; Holt et al., 2016).

B. bruxellensis da deterioração do vinho indicou um fenótipo atípico para produção do aroma com elevados teores de 4EG, 4EP, octanoato de etila, decanoato de etila, ácido acético e acetato de etila promovendo um buquê de percepções condimentadas, frutadas e florais. Já outra cepa obteve acetato de isoamila (pera) e acetato de isobutila (abacaxi), além de altos níveis de acetaldeído (folhas verdes). A produção de 4EG e 4EP das espécies *Brettanomyces* são resultados da atividade única de vinil redutase realizadas em duas etapas metabólicas: a descarboxilação de ácidos ferúlico ou p-cumárico que deriva o vinílico (4VG e 4VP) e posteriormente a redução transformando em 4EP e 4EPG. Devido a todo processo na geração de compostos fenólicos, gera um perfil sensorial diferenciado da *Saccharomyces* (Tyrawa et al., 2019).

6.2.5 *Zygorulasporea florentina*

Entre as culturas avaliadas por Holt et al. (2018), a *Z. florentina* formaram álcoois superiores na concentração acima do limiar sensorial. Quanto aos compostos fenólicos, a levedura não convencional foi POF+, mas, produziu níveis intermediários de 4GV. Os pesquisadores concluíram que a espécie apresenta potencial para produção de bebidas com perfil fenólico, mesmo não produzindo acetatos frutados ou ésteres etílicos, exceto pelo decanoato de etila. Esta substância também conhecida por caprato de etila proporciona aroma de frutado, gorduroso ou floral, as mesmas percepções observadas por Methner et al. (2019) com a mesma espécie (Hu et al., 2018).

6.2.6 *Kazachstania servazzi*

Observou maior presença de álcool amílico e isoamílico (aroma alcoólico), 2-metilbutanal (aroma de banana, maçã) e 2-metilpropanol (aroma alcoólico). As percepções frutadas de pêra e maçã derivam da presença de ésteres, como o acetato de 3-metilbutila (acetato de isoamila) e da concentração acima do limiar de 2-feniletila (acetato de fenetila), além da identificação do acetato de etila promovendo aroma frutado. As olências também foram notadas em Lin et al. (2022) na produção de vinho aromático. Contudo, o perfil sensorial da *K. servazzii* indicou notas predominantes cereais (semelhante ao pão), doce e de DMS que causa a percepção desagradável por prover um aroma de alimentos cozidos, vegetais e milho, provavelmente originado pela presença do metional. Tal substância é responsável pelo aroma de batatas torrada, legumes e ranço, ou seja, mesmo em quantidades pequenas pode influenciar nos demais aspectos aromáticos (Muller et al. 2019, Lobo, et al. 2016). Em Methner et

al. (2019) ocorrem as mesmas impressões olfativas, todavia, há possibilidade de os compostos aromáticos se equilibrarem diminuindo odor indesejável.

6.2.7 *Zygoascus meyeræ*

A espécie estudada por Larroque et al. (2020) revelou quantidades de álcool semelhante ao nível produzido pela *S. cerevisiae*, principalmente na geração de álcool 2-fenético, álcool isobutil e 4-vinilguaiacol originando percepções de rosas, alcoólico e de cravo. A presença de butirolactonas e álcool vanilílico foram observadas nas cepas puras e proporcionaram notas aromática doces, baunilha e de frutas maduras, lembrando compotas. No entanto, a descrição de compota desapareceu em cultura mista com *S. cerevisiae* permanecendo apenas o aroma frutado (de Araújo et al., 2016).

6.2.8 *Saprochaete suaveolens*

A pesquisa de compostos voláteis identificou 22 substâncias tendo principalmente ésteres e álcoois. Na primeira semana de fermentação ambas as cervejas de cultura pura e mista produziram maiores quantidade de ésteres, principalmente de acetato e ésteres etílicos conferindo o aroma frutado ao produto. Devido ao elevado nível de ésteres na fermentação pura de *S. suaveolens*, identifica-se a capacidade de esterificação dos microrganismos. Em fermentações combinadas com levedura convencional a quantidades desses compostos é reduzida, sugerindo a inibição na produção por parte da *S. cerevisiae* (Tan et al., 2021).

Observa-se que a concentração de ésteres é diretamente proporcional ao aumento da quantidade de levedura não convencional, sendo reduzida em fermentação mista. Em todas as cervejas foi observada concentração semelhante ao acetato de isoamila (3-metilbutil) proporcionando aroma frutado, semelhante à banana. Da mesma forma foi identificado acetato de 2-metilpropila e acetato de fenetila que promovem sabor frutado e floral, respectivamente, sendo acentuado em cultura mista (Lin et al., 2019).

As cervejas produzidas durante 7 dias apenas com *S. suaveolens* geraram compostos voláteis como: 3-metilbutanoato de etila, álcool isoamílico, 2-metilbutanoato de etila, tendo como característica sensorial o aroma de frutado/doce, alcoólico e frutado, respectivamente. Em cultura mista com *S. cerevisiae* durante o mesmo período produziu substâncias intermediárias, especificamente o acetato de 2-metilpropila promovendo novamente a olência de banana.

7. Considerações Finais

É notável o rico perfil aromático que as leveduras podem proporcionar na produção de bebidas fermentadas. Com o aumento de cervejarias artesanais, a demanda tornou-se mais exigente quanto à complexidade sensorial. Se antes as *não-Saccharomyces* eram vistas como elementos negativos na cerveja, atualmente a procura por produtos diferenciais é alta. O uso de leveduras não convencionais apresenta o grande potencial para promover o aprimoramento do aroma e sabor, além de não se estender somente para cervejas, mas também para vinhos, sucos, kombuchas e destilados. A escolha dos microrganismos pode variar para o tipo de bebida, teor de álcool e características sensoriais desejáveis.

As características tecnológicas das leveduras não convencionais retratam o comportamento do microrganismo durante a fermentação e quais fatores são influentes para seu desempenho ou inibição. Observa-se que o êxito em alguns testes está associado a linhagem adotada no estudo, como visto na *Torulaspora delbrueckii*, *Hanseniaspora* e *Brettanomyces*. Tais espécies dependem do meio de cultivo e condições de estado, ou seja, se houve deterioração. A variação da linhagem pode influenciar na assimilação de açúcares e conseqüentemente na produção de etanol. A conversão é tão fundamental que alguns autores adotaram como etapa de triagem para realização de estudos. O gênero *Hanseniaspora* e *Zygoascus meyeræ* não apresentaram capacidade

de assimilar a maltose, sendo indicada a combinação mista com *Saccharomyces* ou na fabricação de cervejas sem álcool.

A realização da fermentação mista surge da necessidade de otimizar a produção do etanol, porém, a interação entre as leveduras não convencionais e convencionais varia. A *T. delbrueckii* não demonstrou qualquer negativa até determinada proporção, no entanto, indicou uma competição com a *Saccharomyces* causando interferências no crescimento, desenvolvimento e desempenho. Outro exemplo foi com *H. uvarum*, em que a combinação impactou nas características sensoriais da bebida. Portanto, adotar a proporção correta de cada cepa pode evitar o processo de inibição e otimizar as reações e características do produto. Como a obtenção de maior teor alcoólico da *Saprochaete suaveolens* em conjunto com apenas 10% da *S. cerevisiae*.

Outro parâmetro importante influente é a resistência ao etanol e a tolerância a altas temperaturas, onde somente *Pichia*, e *Kazachstania servazzi* apresentaram boa performance nos testes. É necessário que a levedura demonstre uma boa termotolerância para não influenciar em sua conservação durante o período de armazenamento, assim como, sua resistência no meio alcoólico, quando combinadas com leveduras convencionais que produzem maiores quantidade de etanol. A presença de microrganismos sensíveis pode causar a inibição ou até a morte da levedura.

Quanto aos compostos voláteis das leveduras não convencionais observa-se a presença majoritária dos grupos álcoois, ésteres e aldeídos, além de identificar a ocorrência dos mesmos compostos em gêneros iguais. A maioria das substâncias listadas não atingiram o limiar para ocasionar uma percepção forte na bebida, mas, os compostos têm grande potencial para alterar o sabor e sobressair sobre outros aromas.

De modo geral, verifica-se a predominância de olências frutadas e florais, em que a origem também pode influenciar, além das notas alcoólicas desejáveis na cerveja tradicional. Os principais aromas foram os que remetem à rosas, banana e maçã. Observa-se a predominância de ésteres nas leveduras *Torulasporea delbrueckii* e a *Saprochaete suaveolens*, o que explica a formação do perfil aromático pelo grupo funcional. A presença de álcoois superiores também é vista em todos os gêneros que causam as notas alcoólicas, porém em quantidades excessivas podem remeter ao cheiro de solvente. Tal característica é considerada um atributo indesejável por influenciar no sabor ou sobressair em outras substâncias aromáticas. Outro composto comum em *T. delbrueckii*, *P. anomala*, *P. fermentans*, *Brettanomyces naardenensis*, *Brettanomyces bruxellensis*, *Zygorulasporea florentina* e *Zygoascus meyeri* é o 4-vinil guaiacol, responsável pelo odor de cravo, picante e outras percepções condimentadas.

A percepção de odores indexáveis pode ser identificada com a presença do diacetil, que além de ser prejudicial à saúde origina aromas amanteigados ou de pipoca. As leveduras que indicaram tais características foram a *T. delbrueckii* e *Hanseniaspora opuntiae*, que apresenta uma tendência em acumular concentrações do composto. O metional apontado em *Kazachstania servazzi* que, mesmo em quantidades pequenas, originou odor desagradável e semelhante à alimentos cozidos e vegetais. Por fim, a produção de ácidos graxos como o ácido octanóico e ácido-9-decanoico conferem aromas gordurosos, ceroso ou rançoso. Contudo, pode ser um fator favorável na produção de cervejas defumadas.

A realização de fermentações sequenciais e em escala são técnicas favoráveis para a otimização de compostos voláteis em não-*Saccharomyces*, além das fermentações mistas. Consiste na melhor forma de otimizar o desempenho de leveduras não convencionais, principalmente trazendo complexidade ao aroma das bebidas. Outra vantagem da inoculação sequencial é evitar as competições entre os microrganismos.

Desta forma, as novas tendências no setor cervejeiro crescem a cada ano e demandam a fabricação de produtos inovadores. Em geral, os microrganismos não convencionais apresentam menor produção de etanol, porém possuem maior desempenho na produção de compostos voláteis que proporcionam atributos positivos a bebidas. Outro aspecto influenciado é o perfil aromático gerado pelas leveduras utilizadas, sendo uma variável preditora na produção da bebida. Portanto, para trabalhos futuros sugere-se estudos e revisões sobre os aspectos negativos e positivos que outras leveduras não convencionais

proporcionam visando explorar o potencial dessas leveduras e controlar as variáveis que podem afetar o seu metabolismo na fermentação, que são fundamentais para a compreensão de quais aromas são indicados para o estilo de cerveja desejado.

Referências

- Albertin, W., Setati, M. E., Miot-Sertier, C., Mostert, T. T., Colonna-Ceccaldi, B., Coulon, J., ... & Masneuf-Pomarede, I. (2016). *Hanseniaspora uvarum* from winemaking environments show spatial and temporal genetic clustering. *Frontiers in microbiology*, 6, 1569. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01569>.
- Anderson, H. E., Santos, I. C., Hildenbrand, Z. L., & Schug, K. A. (2019). A review of the analytical methods used for beer ingredient and finished product analysis and quality control. *Analytica Chimica Acta*, 1085, 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.07.061>.
- de Araújo, C. M. G., Dalla Santa Spada, P. K., dos Reis, D. S., Carnieli, G. J., Dutra, S. V., & Vanderlinde, R. (2016). Influência climática em mostos e vinhos da safra 2015. *Divulgação ABE*.
- Araújo, K., Berradre, M., Rivera, J., Cáceres, A., Páez, G., Aiello, C., & Pérez, D. (2016). Fusión intergénica de protoplastos de *Saccharomyces cerevisiae* y *Hanseniaspora guilliermondii*. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 36(2), 51-57. Recuperado de http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1315-25562016000200005&script=sci_arttext.
- Araújo, M. C., Brandão, Y. F. F., & de Lima Filho, H. J. (2022). Estudo comparativo de metodologias para a determinação do amargor em cervejas artesanais e industriais. *Research, Society and Development*, 11(12), e338111234363-e338111234363. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i12.34363>.
- Basso, R. F., Alcarde, A. R., & Portugal, C. B. (2016). Could non-*Saccharomyces* yeasts contribute on innovative brewing fermentations? *Food Research International*, 86, 112-120. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.06.002>.
- Benito, S. (2018). The impact of *Torulaspora delbrueckii* yeast in winemaking. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(7), 3081-3094. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8849-0>.
- Benucci, I., Cecchi, T., Lombardelli, C., Maresca, D., Mauriello, G., & Esti, M. (2021). Novel microencapsulated yeast for the primary fermentation of green beer: Kinetic behavior, volatiles and sensory profile. *Food Chemistry*, 340, 127900. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127900>.
- Bogdan, P., & Kordialik-Bogacka, E. (2017). Alternatives to malt in brewing. *Trends in Food Science & Technology*, 65, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.05.001>.
- Bourbon-Melo, N., Palma, M., Rocha, M. P., Ferreira, A., Bronze, M. R., Elias, H., & Sá-Correia, I. (2021). Use of *Hanseniaspora guilliermondii* and *Hanseniaspora opuntiae* to enhance the aromatic profile of beer in mixed-culture fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiology*, 95, 103678. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103678>.
- Buiatti, S., Guglielmotti, M., & Passaghe, P. (2021). Industrial beer versus craft beer: definitions and nuances. In *Case Studies in the Beer Sector* (pp. 3-13). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817734-1.00001-X>.
- Byeon, Y. S., Hong, Y. S., Kwak, H. S., Lim, S. T., & Kim, S. S. (2022). Metabolite profile and antioxidant potential of wheat (*Triticum aestivum* L.) during malting. *Food Chemistry*, 384, 132443. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132443>.
- Cadez, N., Bellora, N., Ulloa, R., Hittinger, C. T., & Libkind, D. (2019). Genomic content of a novel yeast species *Hanseniaspora gamundiae* sp. nov. from fungal stromata (Cyttaria) associated with a unique fermented beverage in Andean Patagonia, Argentina. *PLoS One*, 14(1), e0210792. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210792>.
- Canonica, L., Agarbati, A., Comitini, F., & Ciani, M. (2016). *Torulaspora delbrueckii* in the brewing process: A new approach to enhance bioflavour and to reduce ethanol content. *Food microbiology*, 56, 45-51. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.12.005>.
- Carvalho, N. B., Minim, L. A., Nascimento, M., de Castro Ferreira, G. H., & Minim, V. P. R. (2018). Characterization of the consumer market and motivations for the consumption of craft beer. *British Food Journal*, 120(2), 378-391. <https://doi.org/10.1108/BFJ-04-2017-0205>.
- CervBrasil. (2017). Dados do setor cervejeiro nacional. *Associação Brasileira da Cerveja*. Recuperado de http://www.cervbrasil.org.br/novo_site/dados-do-setor/
- Chamnipa, N., Thanonkeo, S., Klanrit, P., & Thanonkeo, P. (2018). The potential of the newly isolated thermotolerant yeast *Pichia kudriavzevii* RZ8-1 for high-temperature ethanol production. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49, 378-391. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.09.002>.
- Chen, J., Yang, Y., Deng, Y., Liu, Z., Xie, J., Shen, S., ... & Jiang, Y. (2022). Aroma quality evaluation of Dianhong black tea infusions by the combination of rapid gas phase electronic nose and multivariate statistical analysis. *Lwt*, 153, 112496. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112496>.
- Colomer, M. S., Funch, B., & Forster, J. (2019). The raise of *Brettanomyces* yeast species for beer production. *Current Opinion in Biotechnology*, 56, 30-35. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.07.009>.
- Dermeval, D., Coelho, J. A. P. M., & Bittencourt, I. I. (2020). Mapeamento sistemático e revisão sistemática da literatura em informática na educação. *JAQUES, Patrícia Augustin; SIQUEIRA, Sean; BITTENCOURT, Ig; PIMENTEL, Mariano. (Org.) Metodologia de Pesquisa Científica em Informática na Educação: Abordagem Quantitativa. Porto Alegre: SBC.*

- Diderich, J. A., Weening, S. M., Van den Broek, M., Pronk, J. T., & Daran, J. M. G. (2018). Selection of Pof-Saccharomyces eubayanus variants for the construction of S. cerevisiae × S. eubayanus hybrids with reduced 4-vinyl guaiacol formation. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1640. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01640>.
- Durello, R. S., Silva, L. M., & Bogusz, S. (2019). Química do lúpulo. *Química Nova*, 42, 900-919. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170412>.
- Escribano-Viana, R., González-Arenzana, L., Garijo, P., Fernández, L., López, R., Santamaría, P., & Gutiérrez, A. R. (2022). Bioprotective Effect of a Torulaspora delbrueckii/Lachancea thermotolerans-Mixed Inoculum in Red Winemaking. *Fermentation*, 8(7), 337. <https://doi.org/10.3390/fermentation8070337>.
- Farzaneh, V., Ghodsvali, A., Bakhshabadi, H., Zare, Z., & Carvalho, I. S. (2017). The impact of germination time on the some selected parameters through malting process. *International journal of biological macromolecules*, 94, 663-668. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.052>.
- Gamero, A., Quintilla, R., Groenewald, M., Alkema, W., Boekhout, T., & Hazelwood, L. (2016). High-throughput screening of a large collection of non-conventional yeasts reveals their potential for aroma formation in food fermentation. *Food Microbiology*, 60, 147-159. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.07.006>.
- García, Y. M., Lemos, E. E. P. D., Ramos, A. L. C. C., Reina, L. D. C. B., Oliveira, A. F. D., Paula, A. C. C. F. F. D., ... & Melo, J. O. F. (2021). Extração e análise de compostos orgânicos voláteis por SPME-HS e GC-MS—um breve referencial teórico. *Ciências Agrárias: O avanço da ciência no Brasil*, 1(4), 68-83. <https://doi.org/10.37885/210504640>.
- Gibson, B., Dahabieh, M., Krogerus, K., Jouhten, P., Magalhães, F., Pereira, R., ... & Vidgren, V. (2020). Adaptive laboratory evolution of ale and lager yeasts for improved brewing efficiency and beer quality. *Annual review of food science and technology*, 11, 23-44. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032519-051715>
- Giorgi, V. V. & Júnior, J. D. O. C. (2016). A Produção Cervejeira como Patrimônio Intangível. *Cultura Histórica & Patrimônio*, 3(2), 140-164. Recuperado de <https://www.semanticscholar.org/paper/A-PRODU%C3%87%C3%83O-CERVEJEIRA-COMO-PATRIM%C3%94NIO-INTANG%C3%8DVEL-Giorgi-J%C3%BAnior/ea35c2b60a5c4f6eafb92e7f8b01a359e8e00cd2>.
- Gschaedler, A. (2017). Contribution of non-conventional yeasts in alcoholic beverages. *Current Opinion in Food Science*, 13, 73-77. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.02.004>
- Harrison, M. A. & Albanese, J. B. (2017). Beer/brewing. *Encyclopedia of Microbiology, Four-Volume Set*, 457-477. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.13014-6>.
- Has, M., Facco, L. N., de Paula Rosa, M., & Pietrowski, G. D. A. M. (2020). Caracterização morfológica e fisiológica de leveduras submetidas à preservação prolongada por congelamento a -80°C e liofilização. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, 14(1), 1
- Holt, S., Mukherjee, V., Lievens, B., Verstrepen, K. J., & Thevelein, J. M. (2018). Bioflavoring by non-conventional yeasts in sequential beer fermentations. *Food Microbiology*, 72, 55-66. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.11.008>.
- Hornsey, I. S. (2016). Beer: History and types. *Encyclopedia of Food and Health*, 345-354. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00057-X>
- Hu, K., Jin, G. J., Mei, W. C., Li, T., & Tao, Y. S. (2018). Increase of medium-chain fatty acid ethyl ester content in mixed H. uvarum/S. cerevisiae fermentation leads to wine fruity aroma enhancement. *Food Chemistry*, 239, 495-501. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.151>.
- Johansson, L., Nikulin, J., Juvonen, R., Krogerus, K., Magalhães, F., Mikkelsen, A., ... & Gibson, B. (2021). Sourdough cultures as reservoirs of maltose-negative yeasts for low-alcohol beer brewing. *Food Microbiology*, 94, 103629. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103629>.
- Kucharczyk, K., & Tuszyński, T. (2017). The effect of wort aeration on fermentation, maturation and volatile components of beer produced on an industrial scale. *Journal of the Institute of Brewing*, 123(1), 31-38. <https://doi.org/10.1002/jib.392>.
- Lai, Y. T., Hsieh, C. W., Lo, Y. C., Liou, B. K., Lin, H. W., Hou, C. Y., & Cheng, K. C. (2022). Isolation and identification of aroma-producing non-Saccharomyces yeast strains and the enological characteristic comparison in wine making. *LWT*, 154, 112653. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112653>.
- Larroque, M. N., Carrau, F., Fariña, L., Boido, E., Dellacassa, E., & Medina, K. (2021). Effect of Saccharomyces and non-Saccharomyces native yeasts on beer aroma compounds. *International Journal of Food Microbiology*, 337, 108953. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108953>.
- Lauterbach, A., Usbeck, J. C., Behr, J., & Vogel, R. F. (2017). MALDI-TOF MS typing enables the classification of brewing yeasts of the genus Saccharomyces to major beer styles. *PLoS one*, 12(8), e0181694. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181694>.
- Lentz, M. (2018). The impact of simple phenolic compounds on beer aroma and flavor. *Fermentation*, 4(1), 20. <https://doi.org/10.3390/fermentation4010020>.
- Li, N., Wang, Q. Q., Xu, Y. H., Li, A. H., & Tao, Y. S. (2020). Increased glycosidase activities improved the production of wine varietal odorants in mixed fermentation of P. fermentans and high antagonistic S. cerevisiae. *Food Chemistry*, 332, 127426. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127426>.
- Li, Z., Song, K., Li, H., Ma, R., & Cui, M. (2019). Effect of mixed Saccharomyces cerevisiae Y10 and Torulaspora delbrueckii Y22 on dough fermentation for steamed bread making. *International journal of food microbiology*, 303, 58-64. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.05.009>.
- Liguori, L., De Francesco, G., Russo, P., Perretti, G., Albanese, D., & Di Matteo, M. (2016). Quality attributes of low-alcohol top-fermented beers produced by membrane contactor. *Food and Bioprocess Technology*, 9(1), 191-200. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1612-y>.
- Lin, H., Liu, Y., He, Q., Liu, P., Che, Z., Wang, X., & Huang, J. (2019). Characterization of odor components of Pixian Douban (broad bean paste) by aroma extract dilute analysis and odor activity values. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 1223-1234. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1636816>.

- Lin, M. M. H., Boss, P. K., Walker, M. E., Sumbly, K. M., & Jiranek, V. (2022). Influence of *Kazachstania* spp. on the chemical and sensory profile of red wines. *International Journal of Food Microbiology*, 362, 109496. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109496>.
- Lobo, A. P., Antón-Díaz, M. J., Alonso, J. J. M., & Valles, B. S. (2016). Characterization of Spanish ciders by means of chemical and olfactometric profiles and chemometrics. *Food Chemistry*, 213, 505-513. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.063>.
- Martin, V., Valera, M. J., Medina, K., Boido, E., & Carrau, F. (2018). Oenological impact of the *Hanseniaspora/Kloeckera* yeast genus on wines—A review. *Fermentation*, 4(3), 76. <https://doi.org/10.3390/fermentation4030076>.
- Masneuf-Pomarede, I., Bely, M., Marullo, P., & Albertin, W. (2016). The genetics of non-conventional wine yeasts: current knowledge and future challenges. *Frontiers in microbiology*, 6, 1563. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01563>.
- Matraxia, M., Alfonzo, A., Prestianni, R., Francesca, N., Gaglio, R., Todaro, A., ... & Moschetti, G. (2021). Non-conventional yeasts from fermented honey by-products: Focus on *Hanseniaspora uvarum* strains for craft beer production. *Food Microbiology*, 99, 103806. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103806>.
- Mello, J. A. V. B., & Silva, J. L. N. (2020). Requisitos de produto para um projeto de cerveja artesanal. *Innovar*, 30(77), 39-52. <https://doi.org/10.15446/innovar.v30n77.87428>.
- Methner, Y., Hutzler, M., Matoulková, D., Jacob, F., & Michel, M. (2019). Screening for the brewing ability of different non-Saccharomyces yeasts. *Fermentation*, 5(4), 101. <https://doi.org/10.3390/fermentation5040101>.
- Michel, M., Kopecká, J., Meier-Dörnberg, T., Zarnkow, M., Jacob, F., & Hutzler, M. (2016). Screening for new brewing yeasts in the non-Saccharomyces sector with *Torulaspora delbrueckii* as model. *Yeast*, 33(4), 129-144. <https://doi.org/10.1002/yea.3146>.
- Michel, M., Meier-Dörnberg, T., Jacob, F., Methner, F. J., Wagner, R. S., & Hutzler, M. (2016). Pure non-Saccharomyces starter cultures for beer fermentation with a focus on secondary metabolites and practical applications. *Journal of the Institute of Brewing*, 122(4), 569-587. <https://doi.org/10.1002/jib.381>.
- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2022). Anuário da cerveja: 2021. Secretaria de Defesa Agropecuária Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Vegetal. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Retirado de <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/arquivos/anuario-da-cerveja-2021.pdf>
- Morcol, T. B., Negrin, A., Matthews, P. D., & Kennelly, E. J. (2020). Hop (*Humulus lupulus* L.) terroir has large effect on a glycosylated green leaf volatile but not on other aroma glycosides. *Food chemistry*, 321, 126644. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126644>.
- Morado, R. (2017). Larousse da cerveja: A história e as curiosidades de uma das bebidas mais populares do mundo. (1ª ed.). São Paulo: Alaúde Editorial.
- Muller, C., Neves, L. E., Gomes, L., Guimarães, M., & Ghesti, G. (2019). Processes for alcohol-free beer production: a review. *Food Science and Technology*, 40, 273-281. <https://doi.org/10.1590/fst.32318>.
- Nagatsuka, Y., Ninomiya, S., Kiyuna, T., Kigawa, R., Sano, C., & Sugiyama, J. (2016). *Yamadazyma kitorensis* fa, sp. nov. and *Zygoascus biomembranicola* fa, sp. nov., novel yeasts from the stone chamber interior of the Kitora tumulus, and five novel combinations in *Yamadazyma* and *Zygoascus* for species of *Candida*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(4), 1692-1704. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000930>.
- Neves, N. A., & Stringheta, P. C. (2021). Caracterização da fração volátil minoritária de bebida alcoólica fermentada de jaboticaba (*Plinia jaboticaba*) por CG/MS. *Research, Society and Development*, 10(4), e41010414122-e41010414122. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i4.14122>.
- Ndubuisi, I. A., Qin, Q., Liao, G., Wang, B., Moneke, A. N., Ogbonna, J. C., ... & Fang, W. (2020). Effects of various inhibitory substances and immobilization on ethanol production efficiency of a thermotolerant *Pichia kudriavzevii*. *Biotechnology for biofuels*, 13(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s13068-020-01729-5>.
- Nikulin, J., Eerikäinen, R., Hutzler, M., & Gibson, B. (2020). Brewing characteristics of the maltotriose-positive yeast *Zygorulaspora florentina* isolated from oak. *Beverages*, 6(4), 58. <https://doi.org/10.3390/beverages6040058>.
- de Paulo, F. J., Simiqueli, A. A., Tabet, C. J., Crepalde, L. T., Minim, L. A., & Minim, V. P. R. (2022). The effect of background music on sensory evaluation of craft beer. *Research, Society and Development*, 11(9), e27611931620-e27611931620. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i9.31620>.
- Postigo, V., Schuurman, T. E., & Arroyo, T. (2022). Non-Conventional Yeast: Behavior under Pure Culture, Sequential and Aeration Conditions in Beer Fermentation. *Foods*, 11(22), 3717. <https://doi.org/10.3390/foods11223717>.
- Rettberg, N., Biendl, M., & Garbe, L. A. (2018). Hop aroma and hoppy beer flavor: chemical backgrounds and analytical tools—a review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 76(1), 1-20. <https://doi.org/10.1080/03610470.2017.1402574>.
- Ribeiro, E. S., de Farias, B. S., da Silva Menegazzi, G., de Almeida Pinto, L. A., & Diaz, P. S. (2021). Produção de cerveja e análise sensorial: um referencial teórico. *Ciência e Tecnologia de alimentos: pesquisas e práticas contemporâneas*, v. 2(47), 656-670. <https://doi.org/10.37885/210805711>.
- Shurson, G. C. (2018). Yeast and yeast derivatives in feed additives and ingredients: Sources, characteristics, animal responses, and quantification methods. *Animal feed science and technology*, 235, 60-76. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2017.11.010>.
- Silva, H. A., Leite, M. A., & Paula, A. D. (2016). Cerveja e sociedade. *Contextos da Alimentação—Revista de Comportamento, Cultura e Sociedade*, 4(2). Recuperado de http://www3.sp.senac.br/hotsites/blogs/revistacontextos/wp-content/uploads/2016/03/73_CA_artigo_revisado.pdf.
- Silva, M. L. A. D., Costa, R. B. A. D., Monteiro, A. C. P., Santos, J. S. D., Silva, B. D. S. D., Santos, L. D. J. D. C., ... & Junqueira, M. D. S. (2021). Perfil de compostos voláteis de um novo estilo de cerveja. *Ciências Agrárias: o avanço da ciência no Brasil*, 291-308. <https://doi.org/10.37885/210504810>.

- da Silva, P. A., Florêncio, N. B., Santos, G. D. M., Melo, E. J. V., Gusmão, N. B. (2022). Potencial Tecnológico de Leveduras Não-Saccharomyces. *Research, Society and Development*, 11(10), e322111032754-e322111032754. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i10.32754>.
- da Silva, V. D. M., da Luz, I. T., Godoy, J. S., Lajús, C. R., Colpani, G. L., Mello, J. M. M., ... & Dalcanton, F. (2022). Desenvolvimento de cerveja estilo Catharina Sour de frutas vermelhas utilizando *Lactobacillus plantarum*. *Research, Society and Development*, 11(9), e59111932009-e59111932009. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i9.32009>
- Sorbo, A., & Broetto, F. (2019). Caracterização dos antioxidantes em cervejas tipo pilsen suplementadas com polpa de maracujá. *Energia na Agricultura*, 34(3), 441-446. <http://dx.doi.org/10.17224/EnergAgric.2019v34n3p441-446>.
- Souza, D. S. R., & Favero, M. D. (2017). Correlação entre a redução da carga microbiológica e a inativação da enzima invertase na etapa de pasteurização da cerveja. *Revista Mundi Meio Ambiente e Agrárias. Curitiba, PR*, 2(1), 15.
- Smith, B. D., & Divol, B. (2018). The carbon consumption pattern of the spoilage yeast *Brettanomyces bruxellensis* in synthetic wine-like medium. *Food microbiology*, 73, 39-48. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.12.011>.
- Stewart, G. G. (2016). Beer: Raw Materials and Wort Production. *Encyclopedia of Food and Health*, 355-363. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00058-1>.
- Stewart, G. G. (2017). The production of secondary metabolites with flavour potential during brewing and distilling wort fermentations. *Fermentation*, 3(4), 63. <https://doi.org/10.3390/fermentation3040063>.
- Tan, M., Caro, Y., Shum-Cheong-Sing, A., Robert, L., François, J. M., & Petit, T. (2021). Evaluation of mixed-fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* with *Saprochaete suaveolens* to produce natural fruity beer from industrial wort. *Food Chemistry*, 346, 128804. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128804>
- Toh, D. W. K., Chua, J. Y., & Liu, S. Q. (2018). Impact of simultaneous fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspora delbrueckii* on volatile and non-volatile constituents in beer. *LWT*, 91, 26-33. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.025>.
- Tronchoni, J., Curiel, J. A., Morales, P., Torres-Pérez, R., & Gonzalez, R. (2017). Early transcriptional response to biotic stress in mixed starter fermentations involving *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspora delbrueckii*. *International journal of food microbiology*, 241, 60-68. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.10.017>.
- Tyrawa, C., Preiss, R., Armstrong, M., & van der Merwe, G. (2019). The temperature dependent functionality of *Brettanomyces bruxellensis* strains in wort fermentations. *Journal of the Institute of Brewing*, 125(3), 315-325. <https://doi.org/10.1002/jib.565>.
- Varela, C. (2016). The impact of non-Saccharomyces yeasts in the production of alcoholic beverages. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(23), 9861-9874. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7941-6>.
- Venturini Filho, W. G. (2021). *Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia*. São Paulo: Blucher.
- Yan, G., Zhang, B., Joseph, L., & Waterhouse, A. L. (2020). Effects of initial oxygenation on chemical and aromatic composition of wine in mixed starters of *Hanseniaspora vineae* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Food microbiology*, 90, 103460. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103460>.
- Yin Tan, W., Li, M., Devkota, L., Attenborough, E., & Dhital, S. (2021). Mashing performance as a function of malt particle size in beer production. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-16. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.2018673>.
- Zdaniewicz, M., Pater, A., Hrabia, O., Duliński, R., & Cioch-Skoneczny, M. (2020). Tritordeum malt: An innovative raw material for beer production. *Journal of Cereal Science*, 96, 103095. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103095>.
- Zheng, Y., Sun, B., Zhao, M., Zheng, F., Huang, M., Sun, J., ... & Li, H. (2016). Characterization of the key odorants in Chinese zhima aroma-type baijiu by gas chromatography-olfactometry, quantitative measurements, aroma recombination, and omission studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(26), 5367-5374. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b01390>.
- Zhong, W., Liu, S., Yang, H., & Li, E. (2021). Effect of selected yeast on physicochemical and oenological properties of blueberry wine fermented with citrate-degrading *Pichia fermentans*. *LWT*, 145, 111261. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111261>.