

# EFEITO DA APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO PROTEICO E DO pH NA PRODUÇÃO DE CERVEJA

*Effect of the application of protein nitrogen and pH in the beer production*

## Resumo:

O desenvolvimento deste trabalho objetivou verificar o efeito da adição de extrato de levedura e do pH na fermentação alcoólica de cerveja Pilsen, tipo Lager, utilizando um planejamento fatorial 22 com ponto central. Conforme resultados encontrados, o pH influenciou positivamente o consumo de substrato, a produção de etanol e a produtividade. Para o fator de conversão YP/S, o pH teve efeito contrário, provocando um decréscimo significativo. A adição de extrato de levedura apresentou comportamento oposto ao apresentado pela variação do pH. Os tratamentos que obtiveram maiores valores, em média, para o consumo de substrato (68,76g/L), a produção de etanol (38,54g/L) e, conseqüentemente a produtividade (0,1605g/L.h), foram T4 e TC, que não diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ). O tratamento T1 apresentou o maior valor para YP/S, (0,594g/g), contudo, obteve a menor produtividade (0,155g/g). Neste contexto, sugere-se estudos complementares, avaliando intervalos de pH mais amplo, visando a otimização do processo.

## Abstract:

The objective of this work was to verify the effect of the addition of yeast extract and pH on the alcoholic fermentation of Pilsen beer, type Lager, using a factorial design 22 with a central point. According to the results, pH positively influenced substrate consumption, ethanol production and productivity. For the YP/S conversion factor, the pH had the opposite effect, causing a significant decrease. The addition of yeast extract presented the opposite behavior to that presented by pH variation. The treatments that obtained the highest values for the substrate consumption (68.76g/L), the ethanol production (38.54g/L) and, consequently, the productivity (0.1605g/L.h) were T4 and CT, which did not differ statistically ( $p < 0.05$ ). Treatment T1 had the highest value for YP/S, (0.594g/g), however, it obtained the lowest productivity (0.155g/g). In this context, complementary studies are suggested, evaluating wider pH ranges, aiming the optimization of the process.



*João Henrique Fernandes da Silva, Glêce Milene Santana Gomes, Jorge Vinícius Fernandes Lima Cavalcanti, Thibério Pinho Costa Souza, Leandro Santos de Oliveira*

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns. E-mail: joao\_henrique20@live.com

Contato principal

*João Henrique Fernandes da Silva*



**Palavras chave:** Nitrogênio proteico; Fermentação; Cerveja.

**Keywords:** Protein nitrogen, Fermentation, Beer.



## INTRODUÇÃO

A produção de bebidas alcoólicas fermentadas constitui uma das atividades mais remotas realizadas pelo homem, bem como a produção de cerveja. Sendo uma atividade milenar, existem relatos de produção de cerveja na região da Mesopotâmia e a literatura sugere que tal processo foi introduzido nos hábitos alimentares, em várias civilizações, há mais de 7000 anos (ESTEVINHO, 2015; FREITAS, 2015).

Apesar do consumo da cerveja estar relacionado aos hábitos de consumo alimentar há séculos, apenas nos últimos 150 anos sua produção e consumo tornaram-se expressivos entre as bebidas alcoólicas admitidas na sociedade industrial moderna, encontrando-se, atualmente, globalizados. A participação do Brasil nesse mercado tem chamado a atenção de grandes empresas que atuam no setor, pois, de fato, a produção na China e no Brasil assumiram proporções surpreendentes nas últimas duas décadas (FREITAS, 2015).

O Brasil produziu 14 bilhões de litros de cerveja em 2014, mantendo-se no terceiro lugar do ranking mundial, atrás apenas da China e Estados Unidos, segundo dados da Kirin Beer University. A produção nacional cresceu a uma taxa média de 5% ao ano, nos últimos dez anos.

Segundo a Associação Brasileira da Indústria da Cerveja (CEVBRASIL, 2015), esse segmento industrial representa 1,6% do PIB, produzindo 14,1 bilhões de litros ao ano, e responsável por uma taxa de ocupação que atinge 2,2 milhões de empregos diretos e indiretos, chegando a uma massa salarial de, aproximadamente, R\$ 27 bilhões. A demanda pela cerveja vem crescendo no país, o que sinaliza a possibilidade de maior participação do produto no cenário econômico.

Com base no histórico de consumo e o constante crescimento do mercado cervejeiro, o estágio tecnológico dessa indústria é considerado maduro e as principais fontes de melhoria estão relacionadas a temas como diminuição do consumo de água e de energia e redução das emissões de CO<sub>2</sub> e de resíduos (CERVIERI JUNIOR, 2014).

Visto a grande importância do setor cervejeiro, estudos avançados relacionados à fermentação e seu rendimento tem sido cada vez mais analisado por centros de pesquisa especializados em bebidas. O uso do método de avaliação cinética de um processo fermentativo tem sido uma ferramenta bastante disseminada. Essa técnica tem como objetivo determinar a taxa de formação de produto (P), consumo de substrato (S) e crescimento celular (X), bem como verificar o efeito de fatores extrínsecos nessas taxas, que são determinantes para a avaliação de um processo fermentativo (VIEGAS, 2003; LIMA; MARCONDES, 2002).

O desenvolvimento deste trabalho teve como objetivo verificar o efeito da adição de nitrogênio proteico e da variação do pH na fermentação alcoólica da cerveja tipo Lager. Como objetivos específicos: avaliar o comportamento fermentativo em termos de crescimento

celular, consumo do substrato e evolução do produto (etanol).

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Centro Tecnológico Instituto de Laticínios do Agreste (CT – Laticínios/ILA) e no Laboratório de Ensino de Química, na Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns (UFRPE/UAG).

### Planejamento experimental

Para avaliar o efeito do nitrogênio proteico (0 a 3,33 g/L) e do pH (4,0 a 5,0) na fermentação, foi realizado um experimento fatorial completo 2<sup>2</sup> com ponto central, levando em consideração os fatores de controle e os níveis dos fatores conforme mostra a Tabela 1. Os tratamentos do planejamento foram avaliados e comparados por meio do teste de Tukey ao nível de 5% no Software Statistica® versão 10.0.

A matriz de planejamento é apresentada na Tabela 1, nesta podem ser vistas as condições para cada ensaio, totalizando cinco experimentos e um controle.

Tabela 1. Matriz de planejamento contendo os ensaios, os níveis dos fatores e as condições da fermentação.

Ensaio	Fatores		Condições da fermentação (Ext. de Lev./ pH)
	Ext. de Lev. (1)	pH (2)	
T1	+	-	(3,33g/L) /4,0
T2	-	-	(1,67g/L) /4,0
T3	+	+	(3,33g/L) /5,0
T4	-	+	(1,67g/L) /5,0
T5	0	0	(2,50g/L) /4,5
TC	Controle		(0,00g/L) /4,5

Sendo os níveis dos fatores: Ext. de Lev: -1 =1,67g/L; 0=2,5g/L; +1=3,33g/L; pH: -1= 4; 0=4,5; +1=5,0.

### Análises

As análises experimentais realizadas foram álcool em volume (OURA, 1977), a partir de dados de densidade das amostras centrifugadas (4500 rpm/5min), com auxílio de um picnômetro (10 mL); consumo de substrato, avaliado mediante a determinação dos sólidos solúveis totais (°Brix) por refratômetro portátil (IAL, 2008) e contagem de células (LEE; ROBINSON; WANG, 1981), por meio da contagem de plaquetas em Câmara de Neubauer. A produção de etanol foi avaliada através da determinação dos seguintes fatores: produto, fator de conversão YP/S e produtividade (AQUARONE et al., 2001). Todas as análises foram realizadas em triplicata e as equações utilizadas podem ser visualizadas no Quadro 1.

Quadro 1. Índices Fermentativos.

Índice	Equação
Álcool em Volume	$\text{Álcool } (^\circ\text{GL}) = (D_i - D_x) * 125$
Contagem de Células	$(\text{Células/mL}) = (NE/10^{-4} \text{ mL}) \times \text{FD} \times 25$
Consumo de Substrato	$C \text{ (g/L)} = S_0 - S$

Produto (Etanol)	$P \text{ (g/L)} = [\text{Etanol (}^\circ\text{GL)}] \cdot 7,895$
Fator de Conversão $Y_{P/S}$	$Y_{P/S} = P/(S_0 - S)$
Produtividade	$P_d = P/t$

Sendo:  $D_i$  = densidade relativa no momento em que se iniciou a fermentação;  $D_x$  = densidade relativa no momento em que se deseja obter o teor alcoólico.  $S_0$  = sólidos solúveis totais inicial;  $S$  = sólidos solúveis totais final;  $NE$  = Número médio de células da contagem;  $FD$  = Fator de Diluição;  $t$  = tempo.

### Processamento da cerveja

O tipo de cerveja elaborada para este experimento foi a puro malte segundo metodologia descrita por SCHIMIDELL et al. (2001), SIQUEIRA (2007) e VENTURINI FILHO (2010). A quantidade de malte, de lúpulo e de sacarose, além das rampas de temperatura, foram estimadas pelo Software cervejeiro BeerSmith® versão 2.2. O fluxograma de processamento da cerveja é ilustrado pela Figura 1.

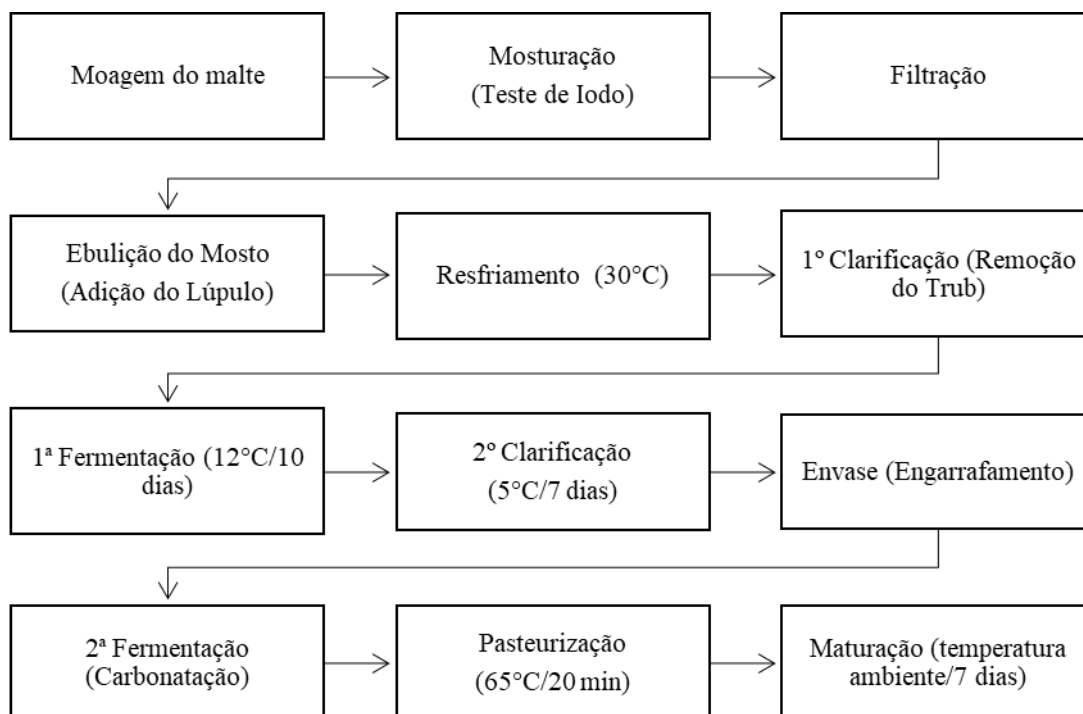


Figura 1. Fluxograma de processamento da cerveja.

Inicialmente, foi realizada a moagem de 5,2 kg de malte Pilsen (Agrária®). Em seguida, deu-se início a etapa de mosturação, onde foi feito o aquecimento de 12,5 L de água potável até a temperatura de 70,6°C em um recipiente (30,0 L), onde o malte previamente moído foi introduzido e submetido a duas rampas de temperatura. Na primeira rampa (64°C/1 h) o malte permaneceu em meio aquoso. Após esse período, foi realizado o teste de iodo para verificar se todo o amido foi convertido em açúcar. Confirmando o fim da etapa de conversão do amido em açúcares fermentescíveis, deu-se prosseguimento para a segunda rampa (70°C/10 min) para inativação das enzimas.

O mosto foi, em seguida, filtrado e as próprias cascas do malte empregadas como leito filtrante, o resíduo sólido final submetido a lavagem (Fly sparge) com água potável a 90°C, para o lixiviamento do açúcar residual. Após essa etapa, deu-se início a ebulição (fervura) do mosto por 1 hora, onde se fez a adição do lúpulo e o mosto foi esterilizado. Após a ebulição, o volume final do mosto foi de 18,0 L, resfriou-se até a temperatura de 30°C e transferiu-se para um recipiente previamente sanitizado

com cloro (200 ppm) e álcool 70° GL. A transferência consistiu na primeira clarificação visando remover os compostos mais pesados, como proteínas e resíduos de grão depositados no fundo da panela (Trub).

Finalmente, o mosto ficou pronto para receber o fermento, sendo adicionados 2 pacotes (2x11,5g) de levedura *S. cerevisiae* da Fermentis® (Saflager S-23) de baixa fermentação. Após a inoculação e posterior homogeneização, foi realizada a divisão do mosto padrão em 6 fermentadores. Cada fermentador recebeu 3,0 L de mosto padronizado e, posteriormente, foram adicionadas as respectivas quantidades de extrato de levedura (nitrogênio proteico) e ácido fosfórico para correção do pH de acordo com o planejamento experimental. Os sistemas foram conduzidos à 1ª fermentação em estufa BOD (12°C/10 dias).

Para fermentação, foram empregados baldes de Polipropileno (PP) como dornas de fermentação, com capacidade total de 3,6 L, de modo que só foram utilizados 3,0 L do volume total para que fosse deixado o espaço de cabeça (head space).

Com o fim da 1ª fermentação (10º dia), deu-se início a 2ª

clarificação a baixa temperatura (5°C/7 dias). Em seguida a cerveja foi acondicionada em garrafas de vidro. Antes do arrolhamento das garrafas, foi adicionada solução de sacarose (1% v/v) como substrato para 2ª fermentação na garrafa e consequente produção do CO<sub>2</sub>. Por fim, foi realizado o arrolhamento das garrafas, para garantir o aprisionamento do gás, e a 2ª fermentação (carbonatação) ocorreu por 7 dias a temperatura ambiente. Finalizada a etapa de carbonatação, a cerveja foi pasteurizada (65°C/20

min) em banho-maria e deixada em um local seco e arejado para sua maturação (estabilização dos componentes) por 7 dias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O consumo de substrato e produção de etanol para os diferentes tratamentos podem ser visualizados na Figura 2.

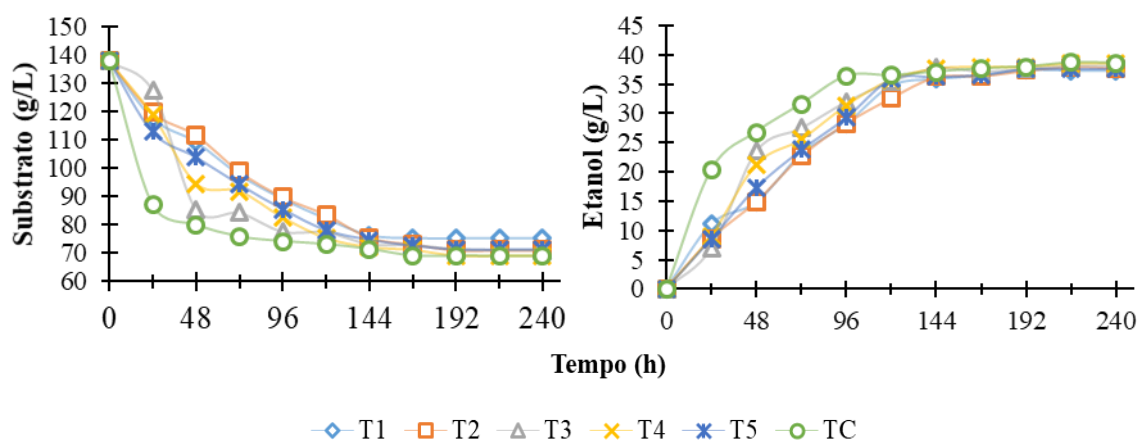


Figura 1. Curvas de consumo de substrato e produção de etanol.

Todos os tratamentos do experimento iniciaram a fermentação com 137,81 g/L de substrato e 0 °GL. Com relação ao consumo de substrato (Figura 2), é possível observar que os tratamentos TC e T3 apresentaram um decaimento mais expressivo nas primeiras 48 horas de fermentação, atingindo um consumo de 57,87 g/L e 52,48 g/L, respectivamente. Outro fator a ser evidenciado é que houve a estabilização do consumo de substrato para todos os tratamentos em torno de 168 horas de fermentação. Com relação ao perfil da produção de etanol para os seis tratamentos estudados, também ilustrado na Figura 2,

nota-se que o tratamento TC apresentou um teor mais elevado de álcool, em g/L, até 120 horas de fermentação, a partir de então a produção de etanol entre os tratamentos foi semelhante.

O comportamento das curvas (Figura 2) é mais bem avaliado mediante um teste de média dos valores finais da fermentação para consumo de substrato e produção de etanol (Tabela 3). Foi obtido também o fator de conversão Y<sub>P/S</sub>, que por sua vez representa a relação entre a quantidade necessária de substrato para produção de álcool (m/m).

Tabela 2. Valores do Consumo de Substrato, Etanol, Y<sub>P/S</sub> e Produtividade ao final da fermentação.

Ensaio	Condições de fermentação		Consumo de Substrato (g/L)	Etanol (g/L)	Y <sub>P/S</sub> (g/g)	Produtividade (g/L.h)
	Ext. de Lev. (g/L)	pH				
T1	3,33	4,0	62,76 <sup>c</sup>	37,26 <sup>d</sup>	0,594 <sup>a</sup>	0,155 <sup>d</sup>
T2	1,67	4,0	66,85 <sup>b</sup>	37,71 <sup>c</sup>	0,564 <sup>c</sup>	0,157 <sup>c</sup>
T3	3,33	5,0	66,88 <sup>b</sup>	38,17 <sup>b</sup>	0,571 <sup>b</sup>	0,159 <sup>b</sup>
T4	1,67	5,0	68,59 <sup>a</sup>	38,51 <sup>a</sup>	0,559 <sup>d</sup>	0,160 <sup>a</sup>
T5	2,50	4,5	66,84 <sup>b</sup>	37,66 <sup>c</sup>	0,563 <sup>cd</sup>	0,157 <sup>c</sup>
TC	0,00	4,5	68,93 <sup>a</sup>	38,57 <sup>a</sup>	0,559 <sup>cd</sup>	0,161 <sup>a</sup>

Letras diferentes na mesma coluna são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Com relação ao consumo de substrato, o tratamento controle (TC) e o tratamento T4 não diferiram entre si ( $p < 0,05$ ) e apresentaram o maior consumo, em média, durante a fermentação, 68,74 g/L. Os tratamentos T2, T3 e T5 apresentaram um consumo médio de 66,86 g/L de substrato, considerando que os tratamentos não diferiram estatisticamente. O tratamento que teve o menor consumo foi o T1, 62,76 g/L.

Henschke e Jiranex (1994), em uma revisão sobre a adição de fontes de nitrogênio em processos fermentativos, mostraram que o pH ótimo para o transporte e absorção de compostos nitrogenados está entre 6,0 e 6,5. Como foi possível observar neste trabalho, o maior consumo de substrato e maior produção de etanol ocorreu em pH 5,0, valor mais próximo da faixa citada anteriormente.

Para o etanol, os tratamentos TC e T4 não diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ) e apresentaram a maior produção, em média 38,54 g/L, em relação aos demais tratamentos. Seguidos pelo tratamento T3, com uma produção de 38,17 g/L. Os tratamentos T2 e T5 não diferiram estaticamente quanto a produção de etanol, com produção 37,67 g/L. Por fim o tratamento T1 (37,26 g/L) que obteve o menor desempenho quanto a produção final de etanol.

Estudos como os de Pulzatto (2000) e Ribeiro et al. (1987), mostraram que a complementação do mosto com fontes de nitrogênio é benéfica para a produção de etanol. Entretanto, o presente estudo apresentou um comportamento diferente, visto que o aumento da concentração de extrato de levedura não favoreceu a

produção alcoólica. Isto pode ser justificado devido a faixa de pH utilizada neste trabalho, que diferiu da encontrada por Henschke e Jiranex (1994), tida como a mais adequada para absorção dos compostos nitrogenados. A relação existente entre a produção de etanol na fermentação alcoólica, a partir do consumo de substrato, é representada pelo fator de conversão YP/S. De acordo com a Tabela 3, o tratamento T1 apresentou a maior média para o fator YP/S, 0,594 g/g, seguido pelo tratamento T3 (0,571 g/g), conforme teste de Tukey a 95% de confiança. Os demais tratamentos apresentaram os menores valores para YP/S, sendo que T2, (0,564 g/g), T5 (0,563 g/L) e TC (0,559 g/g) não apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ), entretanto T4 (0,563 g/L) diferiu de T2, todavia não diferiu de T5 e TC.

A partir da Figura 3.a, que ilustra o efeito dos fatores sobre o fator de conversão YP/S, podemos observar que a aplicação de extrato de levedura (1) influencia positivamente o fator de conversão, ou seja, quanto maior a concentração de extrato de levedura maior será o fator de conversão. O pH (2) também influencia neste fator, mas de forma negativa, de modo que o aumento deste acarreta numa diminuição do fator de conversão (YP/S). Outra afirmação que pode ser realizada com base na Figura 3.a é que, embora todos os efeitos tenham sido significativos, o extrato de levedura é o fator que detém a maior influência, em módulo. Os efeitos de primeira e segunda ordem entre o extrato de levedura e o pH podem ser melhor visualizados na Figura 3. b.

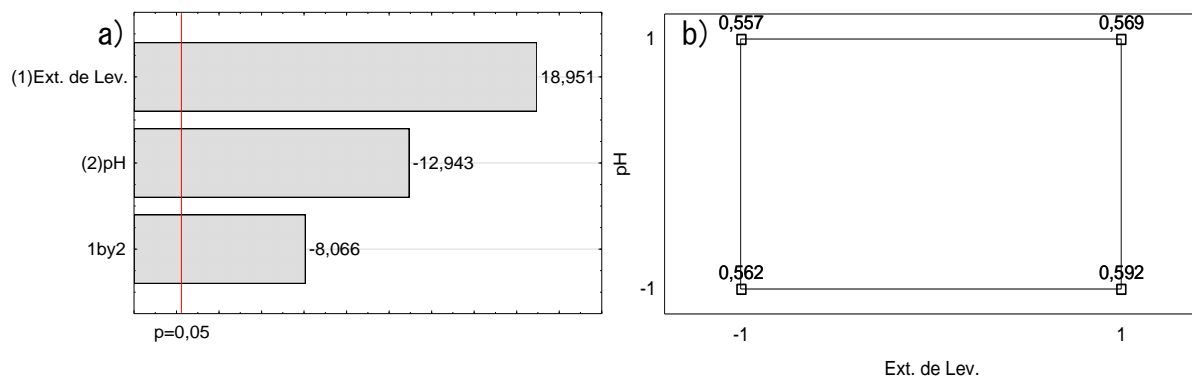


Figura 2. Gráfico de Pareto (a) e representação geométrica (b) do fator de conversão  $Y_{P/S}$ .

Conforme a Figura 3. b, quando estamos no nível baixo (-) do extrato de levedura, a passagem do nível (-) para o (+) do pH acarreta numa diminuição do fator YP/S, o mesmo ocorre quando estamos no nível alto (+) do extrato de levedura. Tais afirmações justificam o sinal negativo do pH na Figura 3. a. Já quando se prossegue do (-) para o (+) do extrato de levedura, qualquer que seja o nível do pH (- ou +), nota-se um aumento no fator YP/S, o que justifica o sinal positivo do extrato de levedura na Figura 3. a.

Em concordância com a Figura 3, Pulzatto (2000) também constatou que a conversão de substrato é mais elevada em meios com maiores teores de extrato de levedura.

Jeronimo (2004) corroborou em sua pesquisa que a conversão de açúcares mostrou-se ser maior naqueles tratamentos com fonte nitrogenada proteica.

Com relação a produtividade, é possível observar na Tabela 2 que os tratamentos TC e T4 não diferiram estatisticamente e apresentaram os maiores valores para produtividade, 0,161 e 0,160 g/L.h, tratamentos com nenhuma ou pouca concentração de extrato de levedura, respectivamente. O tratamento T3 teve a segunda maior média, 0,159 g/L.h, seguido dos tratamentos T2 e T5, os quais não apresentaram diferenças estatísticas e apresentaram uma produtividade média de 0,157 g/L.h. Já o tratamento T1 apresentou a menor produtividade (0,155

g/L.h). Este comportamento já era esperando devido ao baixo valor produzido de etanol em função do menor consumo de substrato, como foi visto anteriormente.

Pereira et al. (2015) verificou o efeito da adição de fontes de nitrogênio na fermentação alcoólica para produção de cachaça. Eles constataram que a concentração de 5 g/L de sulfato de amônio, fonte nitrogenada utilizada, apresentou uma maior produtividade, diferindo do resultado encontrado neste estudo, uma vez que as maiores concentrações de extrato de levedura não provocaram um aumento na produtividade. Isto pode ser justificado com base no pH inicial do mosto utilizado por estes autores, que foi de 5,4, superior ao intervalo de pH estudado no presente trabalho.

## CONCLUSÃO

O pH influenciou positivamente o consumo de substrato, a produção de etanol e a produtividade, ou seja, para essas variáveis, quanto maior o pH melhor. Com relação ao fator de conversão YP/S, o pH teve um efeito oposto, de modo que o seu aumento provocou um decréscimo significativo do fator em questão. Já o extrato de levedura apresentou um comportamento exatamente oposto ao pH.

Os tratamentos que obtiveram os maiores valores para o consumo de substrato, produção de etanol e, conseqüentemente produtividade, foram T4 e TC, que não diferiram estatisticamente. O tratamento T1 apresentou o maior fator de conversão YP/S, 0,594 g/g, embora tenha apresentado a menor produtividade.

Diante do exposto, sugere-se estudos futuros com pH até 6,0, a fim de verificar o aumento da absorção dos compostos nitrogenados advindos do extrato de levedura na produção de cerveja e, desta forma, tentar otimizar o processo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIMIDELL, W.; LIMA, U. A. **Biociência Industrial**. São Paulo, Edgard Blucher Ltda, vol. 4, 2001.

CERVBRASIL. 2015. **Anuário 2015 da Associação Brasileira da Indústria da Cerveja**. [http://www.cervbrasil.org.br/arquivos/ANUARIO\\_CB\\_2015\\_WEB.pdf](http://www.cervbrasil.org.br/arquivos/ANUARIO_CB_2015_WEB.pdf). Acesso: 15 jun. 2016.

CERVIERI JÚNIOR, Osmar et al. O setor de bebidas no Brasil. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 40, 2014.

ESTEVINHO, L. M. **Leveduras e fermentações: O caso da cerveja. Jornadas de lúpulo e cerveja: novas oportunidades de negócio**, p. 53-62, 2015.

FREITAS, A. G. DE. RELEVÂNCIA DO MERCADO CERVEJEIRO BRASILEIRO: avaliação e perspectivas e a busca de uma Agenda de Regulação 1. **Revista Pensamento e Realidade**, v. 30, p. 22-33, 2015.

HENSCHKE P. A.; JERANEK V. Yeasts – metabolismo of nitrogen compounds. **Wine Microbiology and Biotechnology**. Ed Suíça: Hardwood Academic Publishers, 510p. 1994.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4ª edição. São Paulo: 2008.

JERONIMO, E. M. **O Nitrogênio Proteico na Fermentação Alcoólica e Sua Influência na Qualidade da Cachaça**. 118 p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas – SP, 2004.

LEE, S.; ROBINSON, F.; WANG, H. Rapid determination of yeast viability. **Biotechnology & Bioengineering Symposium**, n. 11, p. 641-649, 1981.

LIMA, L. R.; MARCONDES, A. A. **Álcool Carburante: Uma Estratégia Brasileira**. Curitiba: Editora UFPR, 248p., 2002.

OURA, E. **Reaction products of yeast fermentations**. Process Biochemistry, v. 12, n. 3, p. 19-21, 35, 1977.

PEREIRA, Alexandre Fontes et al. Adição de fontes de nitrogênio e duas linhagens de levedura na fermentação alcoólica para produção de cachaça. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 1, n. 1, p. p. 45-59, 2015.

PULZATTO, M. E. **Fatores que Influem na Obtenção de Biomassa de Levedura Seca (Saccharomyces cerevisiae) da Fermentação Alcoólica**. 112p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, 2000.

RIBEIRO, F. J.; LOPES, J. J.; FERRARI, S. E. **Complementação de nitrogênio de forma contínua no processo de fermentação alcoólica**. Brasil Açucareiro, v.1, n.105, p.26-30, 1987.

SCHIMIDELL, W. et al. **Biociência Industrial**. Vol. 2. Ed. Edgard Blucher LTDA, 2001.

SIQUEIRA, P. B. **Estudo da cinética bioquímica e sensorial de diferentes tipos de cervejas brasileiras**. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, p. 1-97, 2007.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: Ciência e tecnologia**. Vol. 1 São Paulo: Blucher, 2010. p. 31-33.

VIEGAS, M. C. **Otimização de sistema de fermentação alcoólica contínua utilizando reatores tipo torre e leveduras com características floculantes**. 150 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química. Universidade Estadual de Campinas. 2003.