

# *No Laboratório:*

---

Principais técnicas para gerenciamento de leveduras na cervejaria

# *Sumário*

**1.** O que são análises laboratoriais e qual o impacto na produção cervejeira?

**2.** Gerenciamento de leveduras cervejeiras

**3.** Técnicas para gerenciamento de leveduras

**3.1.** Contagem e viabilidade celular em Câmara de Neubauer

**3.2.** Vitalidade celular

**3.3.** Compactação de leveduras

**3.4.** Análise de pH

**3.5.** Análise sensorial do fermento

**3.6.** Identificação de contaminantes

**4.** Conheça os tipos de análises que a Levteck oferece

**4.1.** Análise molecular de bactérias em produto finalizado [MB-01]

**4.2.** Análise molecular de leveduras em produto finalizado [MB-02]

**4.3.** Contagem total de microrganismos [MB-04]

**4.4.** Análise Físico-Química de cerveja [FQ-01]

**5.** Sobre a Levteck



# ***Introdução***

Você sabe quais são as principais técnicas para gerenciamento de leveduras na cervejaria? Essa é uma dúvida bastante pertinente e presente por parte de muitos empresários do setor.

Por esse motivo, preparamos um material completo sobre o assunto e ele vai ser um guia para rotinas de controle de qualidade do fermento.

O conteúdo será destinado a todos os cervejeiros de forma a seguir os protocolos passo a passo e garantir a máxima qualidade da sua produção.

Neste e-book destacaremos o que são as análises laboratoriais e informaremos as principais técnicas utilizadas para o gerenciamento de leveduras nos laboratórios.

## ***Continue lendo!***



# 1

*O que são análises  
laboratoriais e qual o impacto  
na produção cervejeira?*



São análises feitas pela empresa ou terceirizada, que contribuem para a identificação de pontos críticos ou produtos fora do padrão, favorecendo o aprimoramento das rotinas de produção, levando a um produto de qualidade.

Nas análises de leveduras conhecemos o estado da levedura. Podemos saber se ela está viável, saudável, o que ocorreu durante a fermentação e qual a condição fisiológica da levedura após o armazenamento. Além disso, por meio das análises laboratoriais, podemos medir o pH e identificar contaminantes nas leveduras de reuso.

Nos procedimentos analíticos busca-se garantir que a levedura esteja saudável e entender quanto tempo ela pode ficar armazenada sem prejudicar as propriedades do microrganismo. Lembre-se sempre, uma levedura saudável é sinônimo de uma fermentação saudável.

***Nosso laboratório oferece todas as análises que sua cerveja precisa!***

Entre em contato agora mesmo



# 2

## *Gerenciamento de leveduras cervejeiras*



Os processos de gerenciamento de leveduras cervejeiras incluem:

- *Concentração correta de levedura para o inóculo;*
- *Coleta e armazenamento das leveduras;*
- *Garantia da pureza das leveduras;*
- *Diversos ciclos de reuso sem ser prejudicial para a fermentação;*
- *Conhecimento das técnicas de qualidade.*

Agora, você deve estar se perguntando: quantas vezes se pode reutilizar uma levedura? Essa resposta é variável, pois depende do gerenciamento da fermentação e do manejo da levedura.

Caso tenha causado algum estresse ao microrganismo (mudança de temperatura e pressão ou fermentações com mais de 7% de álcool, por exemplo), os ciclos de reuso são diminuídos, bem como o tempo que essa levedura pode permanecer armazenada.

Vale destacar que a contaminação em biomassa de leveduras é relativamente fácil de ocorrer, devido a presença de alguns nutrientes do próprio mosto. Além disso, a própria levedura pode liberar aminoácidos, glicogênio e outros nutrientes para as bactérias após a sua morte celular.



As leveduras de reuso podem ser consideradas uma bomba relógio prestes a explodir quando contaminadas, pois quando é inoculada, leveduras e bactérias se multiplicam juntas. Por isso, as técnicas que iremos destacar a seguir devem ser seguidas em conjunto, pois vão ajudar a otimizar o gerenciamento da levedura na fábrica.

Agora, prepare-se para uma visualização detalhada. Você verá um diagrama que explora essas técnicas essenciais em torno da “Biomassa de Leveduras”. Uma jornada visual aguarda, revelando como cada estratégia se entrelaça para aprimorar a produção.

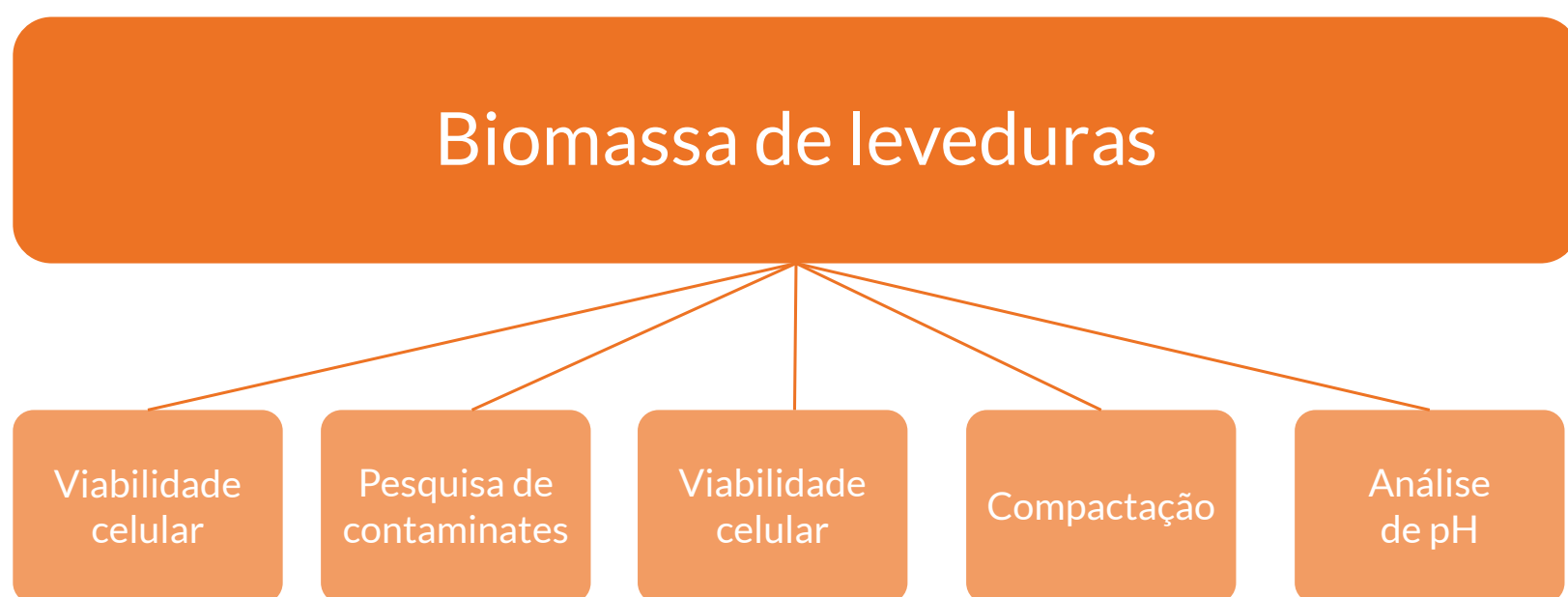


Figura 1. Fluxograma das principais técnicas de gerenciamento de leveduras cervejeiras.

# 3

*Técnicas para gerenciamento  
de leveduras*



Existem alguns métodos que podem ser utilizados para o gerenciamento de leveduras. O conhecimento das principais técnicas vai ajudar você a implementar as melhores práticas e a melhorar a produção da bebida.

### ***3.1. Contagem e viabilidade celular em Câmara de Neubauer***

Essa é uma técnica de baixo custo e muito importante de ser aplicada no dia-a-dia. Indica o número de células por ml e o percentual de células vivas em uma população (viabilidade), fazendo uso de um corante.

No gerenciamento de leveduras, a técnica pode ser utilizada após a propagação, verificação da concentração da biomassa de levedura de reuso e até mesmo para confirmar se as leveduras foram inoculadas na concentração de células correta.

Abaixo segue o protocolo para execução da técnica. Para maiores dúvidas, acesse o [nosso canal do Youtube](#) e assista o vídeo explicativo sobre esse procedimento.





## ***Materiais necessários***

- Microscópio biológico binocular com aumento mínimo de 400X;
- Câmara de Neubauer com lamínula;
- Balança com duas casas decimais;
- Agitador magnético com barra magnética;
- Azul ou violeta de metileno;
- Becker, tubo de ensaio e pipetas;
- Lenço de papel.

## ***Preparação da amostra***

- 1.** Deve-ser diluir a amostra em água por peso, de acordo com a origem da mesma:
  - a.** Amostra de propagação ou fermentação: diluir 2 a 10X;
  - b.** Amostra de biomassa de reuso: diluir de 100 a 200X;
- 2.** Se tiver trabalhando com uma levedura de alta floculação adicionar duas gotas de ácido sulfúrico 7N à preparação;
- 3.** Após a diluição, homogeneizar por 3 minutos em agitador magnético;
- 4.** Transferir 1 g de levedura diluída para um tubo de ensaio e adicionar 1 g do corante (azul ou violeta de metileno 0,01%).



## ***Preparação da Câmara de Neubauer***

- 1.** Limpar bem a Câmara de Neubauer com água destilada e papel macio;
- 2.** Fixar a lamínula na superfície da Câmara de Neubauer;
- 3.** Após, homogeneizar a amostra e transferir para Câmara de Neubauer sem a formação de bolhas, espaços vazios ou excesso de amostra;
- 4.** Levar ao microscópio de realizar a contagem o mais rápido possível, no aumento de 400X;
- 5.** Contar as leveduras presentes nos 5 quadrantes de contagem que compõe uma diagonal;
- 6.** Células coradas de azul ou violeta são consideradas células mortas enquanto que as leveduras incolores são consideradas células vivas;
- 7.** Brotos com tamanho maior da metade da célula mãe, são contados como uma célula.

## ***Cálculos***

- 1.** Para calcular a concentração de leveduras em uma amostra utilize a fórmula abaixo:

$$\text{Número cel/gr} = \text{nº total de células} * 5 * \text{FD} * 10.000$$

**onde:** FD = fator de diluição

- 2.** Para calcular a viabilidade da população de leveduras utilizar a fórmula abaixo:

$$\text{Viabilidade (\%)} = (\text{nº cel vivas} / \text{nº cel totais}) * 100$$



## ***Preparação do Azul de Metileno***

- 1.** Preparar uma solução saturada de azul de metileno em 30 mL de etanol 95%;
- 2.** Preparar 100 mL de uma solução de NaOH 0,01% (pH próximo de 11,0);
- 3.** Misturar as duas soluções e filtrar em papel filtro;
- 4.** Armazenar a solução pronta em frasco âmbar e rotular com a data de preparo, volume de solução e responsável;
- 5.** Ficar atento para a coloração do azul, caso fique muito concentrado todas as células aparecem coradas de azul. Nesse caso diluir mais com solução de NaOH 0,01%.

### ***3.2. Vitalidade celular***

Por meio da vitalidade celular, torna-se possível saber se a levedura está saudável. Existem dois métodos rápidos para acessar a saúde das leveduras:

- 1.** Medições qualitativas dos níveis de glicogênio com lugol;
- 2.** Medição do poder de acidificação da levedura.

Nesse contexto, bons níveis de glicogênio e carboidrato de reserva das células, indicam que o microrganismo está saudável e apto para iniciar uma nova fermentação. Para visualizar se a levedura está com níveis adequados de glicogênio é só seguir a metodologia abaixo:

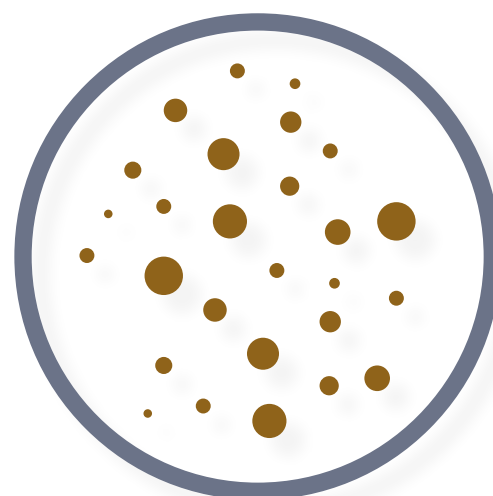


1. Utilizar a mesma diluição preparada para a contagem de leveduras.  
Transferir 1,0 mL da levedura diluída para um tubo de ensaio;
2. Misturar com 1,0 mL de Lugol;
3. Levar ao microscópio e observar as células no aumento de 400X;
4. Leveduras coradas de marrom escuro apresentam altas concentrações de glicogênio, indicando saúde celular, enquanto que leveduras coradas de amarelo indicam ausência de glicogênio;
5. Mantenha sempre as leveduras no gelo para realizar esse teste, para não ter falsos negativos.

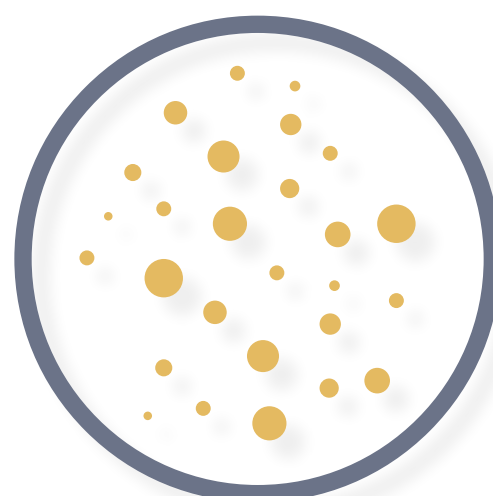
A outra metodologia é o teste do poder de acidificação. Ele mede a capacidade da levedura em utilizar açúcares. Quanto mais saudável, mais rápido ela usará os açúcares do meio, baixando rapidamente o pH. Para a execução desse teste é só seguir a metodologia abaixo:

## ***Materiais necessários***

- pHmetro de bancada;
- Água deionizada ou destilada;
- Becker de 50 mL;
- Agitador magnético com barra magnética;
- Solução de glicose 20%.



***Com vitalidade***



***Sem vitalidade***



## ***Procedimento***

- Calibrar o pHmetro sempre antes de realizar o teste;
- Ajustar o pH da água para 6,5;
- Adicionar 15 mL da água com o pH ajustado em um Becker de 50 mL contendo a barra magnética;
- Monitorar o pH da água por 5 minutos e após o tempo anotar a leitura do pH (AP0);
- Adicionar 5 mL de uma solução de leveduras na concentração de  $1 \times 10^9$  cel/mL e manter em agitação por 10 minutos;
- Após o tempo anotar a leitura de pH (AP10);  
Imediatamente adicionar 5 mL da solução de glicose 20% e manter em agitação por 10 minutos;
- Após o tempo anotar a leitura do pH (AP20);
- O poder de acidificação é a diferença entre AP20 e AP0. A diferença mínima deve ser de 2,0 pontos de pH. Quanto maior a diferença, maior a vitalidade;
- Repita o teste em triplicata para garantia dos resultados.

### ***3.3. Compactação de leveduras***

Essa técnica permite identificar a quantidade de sólidos em uma biomassa de leveduras, pela centrifugação da biomassa em um tubo graduado. O percentual de sólidos de leveduras pode ser correlacionado em uma curva de calibração com a concentração celular e ajudar na dosagem correta de leveduras no início de uma fermentação. [Conheça mais no nosso canal do Youtube.](#)



Uma dica importante, a técnica de compactação não deve ser utilizada para leveduras mais antigas, de segunda ou terceira geração, sem a quantificação da viabilidade e vitalidade celular.

## ***Materiais necessários***

- Agitador magnético com barra magnética;
- Balança;
- Centrífuga de bancada;
- Tubos graduados de centrifugação;
- NaOH 30%;
- Becker 50 mL.

## ***Procedimento***

- Pesar 10 g da biomassa de levedura em um Becker;
- Adicionar 0,4 mL da solução de NaOH 30%;
- Levar ao agitador magnético e homogeneizar por 3 minutos;
- Transferir 10 mL dessa solução para o tubo graduado;
- Centrifugar por 5 minutos a 2000 RPM.

## ***Cálculos***

$$\text{Sólidos de leveduras (\%, v/v)} = (B \times 10)$$

$$\text{Sólidos totais (\%, v/v)} = [(A + B + C) \times 10]$$

***onde:***

**A** = camada superior de sólidos

**B** = camada de leveduras

**C** = camada inferior de sólidos



### 3.4. Análise de pH

Uma forma rápida e fácil de identificar a qualidade das leveduras de reuso é pela medida do pH. Podemos aferir o pH em dois momentos:

1. Cerveja finalizada;
2. Biomassa de leveduras.

O aumento de 0,2 pontos do pH da cerveja finalizada, ainda na presença de leveduras, indica uma forte degeneração celular, acendendo um alerta sobre o reuso dessas leveduras.

Já a medição do pH diretamente na própria biomassa de leveduras é um indicativo de autólise celular. Nesse caso é importante destacar que não devemos reutilizar leveduras com pH acima de 5,5.

| PH Ideal            |         |
|---------------------|---------|
| Água de Fermentação | <6.0    |
| Mosturação          | 5.2-5.6 |
| Lavagem de Grãos    | 5.5-6.0 |
| Mosto               | 5.2-5.6 |
| Fermentação         | 4.0-4.5 |
| Cerveja             | 4.1-4.6 |

A autólise celular, consiste na ruptura das células de leveduras, gerando um ambiente alcalino, ou seja, um aumento do pH.

### 3.5. Análise sensorial do fermento

Em geral, a levedura tem sabor amargo. Por outro lado, se no momento da análise sensorial, os sabores ficarem **ácidos, adstringentes ou azedos**, há indícios de contaminantes.

Além disso, a presença do aroma de **compostos sulfurosos** pode ser indício de saúde ruim da levedura e devemos evitar o reuso da biomassa com esse perfil sensorial.

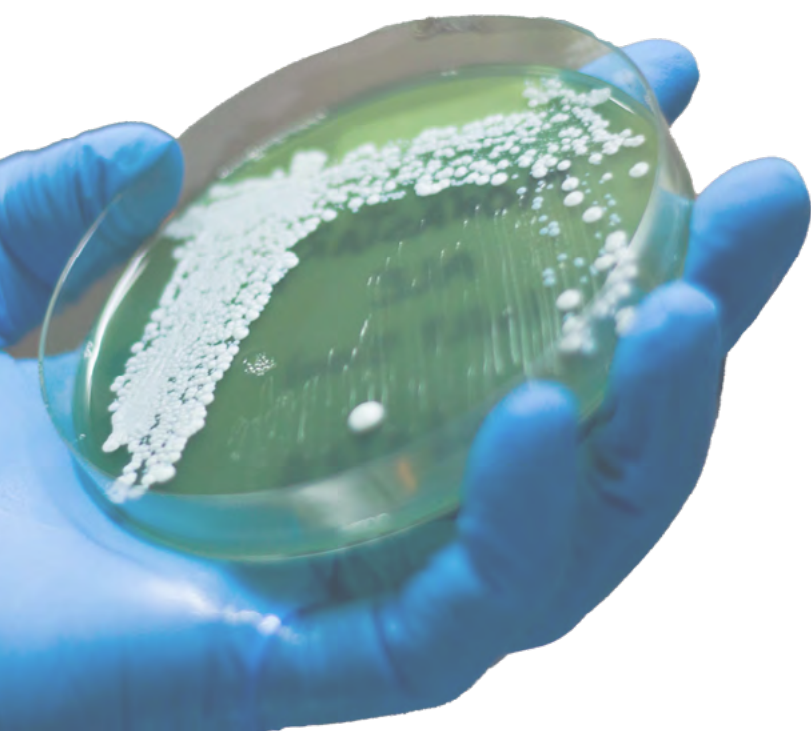


### ***3.6. Identificação de contaminantes***

A análise microbiológica da biomassa ajuda a impedir o reuso de leveduras contaminadas, evitando a multiplicação de bactérias. Para conhecer mais sobre a coleta asséptica de amostras e a metodologia de filtração em membrana [acesse nossos vídeos](#).

Bactérias lácticas, acéticas, enterobactérias e leveduras contaminantes são os principais agentes contaminantes. A Levteck desenvolveu meios de culturas específicos para detecção dos principais deteriorantes em cervejas. Utilizando os meios TeckBac e TeckLev#5 associados a técnica para identificação de contaminantes em biomassa de leveduras, você irá conhecer e acompanhar o estado microbiológico dos seu principal insumo.

#### ***Materiais necessários***



- Solução salina esterilizada para diluições da biomassa;
- Alça em T esterilizada ou Alça de Drigalski;
- Pipetas esterilizadas;
- Tubo para coleta esterilizado;
- Bico de Bunsen ou Fluxo Laminar;
- Meios de cultura TeckBac, TeckLev#5 e MRS;
- Estufa bacteriológica.



## ***Coleta da Amostra***

- Limpar bem o local da coleta de leveduras, borrifando álcool 70% por toda superfície (principalmente se a levedura for coletada em torneiras de amostragem);
- Flambar (quando possível) o local de amostragem pela queima do álcool 70% borrifado utilizando um maçarico;
- Utilizar o maçarico para forçar um ambiente estéril no local da coleta;
- Trabalhar sempre próximo a chama do maçarico (você deve sentir o calor do fogo);
- Abrir a torneira de coleta de amostra e descartar o primeiro fluxo;
- Abrir o tubo de coleta, coletar cerca de 10 mL de lama de levedura e fechar o tubo imediatamente;
- A amostra deve ser semeada no meio de cultura imediatamente após sua coleta.

## ***Diluição da amostra e incubação***

- A biomassa de leveduras deve ser diluída 1:100 (cem vezes) antes de ser inoculada nos meios de cultura;
- Para diluir a amostra, utilizar uma pipeta esterilizada para transferir 1 mL da levedura coletada para um tubo contendo 9 mL de solução salina estéril;
- Homogeneizar bem o tubo e identificar o mesmo como  $10^{-1}$ ;
- Retirar 1 mL do tubo  $10^{-1}$ , utilizando a mesma pipeta, e transferir para outro tubo contendo 9 mL de solução salina estéril;
- Homogeneizar bem o tubo e identificar o mesmo como  $10^{-2}$ ;
- Utilizando uma pipeta nova, transferir 0,25 mL do tubo Falcon  $10^{-2}$  para a superfície dos meios **TeckBac** e do meio **TeckLev#5** e **MRS**. Manter as tampas das placas fechadas;
- Com a alça em T, espalhar a amostra por toda superfície do meio fazendo movimentos circulares até sentir que a amostra já foi toda absorvida pelo meio de cultura. Repetir esse procedimento para cada meio de cultura;
- Incubar as placas em estufa bacteriológica na temperatura de 30 °C e aguarde pelo menos 48 horas para verificar o resultado;
- Considere limpo, sem contaminação se tiver ausência de crescimento após 5 dias;
- Caso ocorra crescimento microbiano, verifique o seu processo.

# 4

*Conheça os tipos de análises  
que a Levteck oferece*



A Levteck oferece um amplo conjunto de análises para os seus clientes e ambos os procedimentos analíticos ajudam as cervejarias a desenvolverem bebidas com melhor qualidade.



#### ***4.1. Análise molecular de bactérias em produto finalizado [MB-01]***

Nesse tipo de análise, há a identificação molecular e espécie dos microrganismos que estão presentes na amostra.



#### ***4.2. Análise molecular de leveduras em produto finalizado [MB-02]***

Esse procedimento é bastante parecido com a técnica de análise anterior. A diferença é que essa análise se preocupa em verificar as leveduras no produto finalizado.



### ***4.3. Contagem total de microrganismos [MB-04]***

Nesse procedimento analítico há a contagem do número total de bactérias e leveduras presentes na amostra.

### ***4.4. Análise Físico-Química de cerveja [FQ-01]***



Há a análise dos parâmetros físico-químicos necessários para o registro do produto do MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). Entre algumas propriedades estão o teor alcoólico, cor, pH, densidade, extrato real, extrato primitivo etc.

# 5

*Sobre a Levteck*



A Levteck atende o mercado nacional na produção de leveduras para cervejas especiais e em programas de qualidade microbiológico destinados para microcervejarias.

A empresa desenvolve kits para controle microbiológico e presta consultorias no reuso de leveduras, viabilidade celular, contribuindo para a padronização das bebidas e a otimização da qualidade das cervejas.

Por fim, mas não menos importante, a empresa é especialista na realização de análises laboratoriais, incluindo análises físico-químicas das cervejas, contagem total de microrganismos, análise molecular de leveduras e bactérias, teste de pasteurização etc.

Como é possível perceber, o gerenciamento de leveduras é fundamental para a produção de uma cerveja de qualidade. Isso porque, essa prática ajuda as cervejarias a produzirem bebidas com propriedades que estejam dentro dos padrões de qualidade, contribuindo para a empresa se destacar no mercado.



Por esse motivo, apresentamos para você as principais técnicas de gerenciamento de leveduras existentes visando ajudar o seu negócio a implementar as práticas da melhor forma possível.

Está interessado em implementar as principais técnicas para gerenciamento de leveduras no laboratório? Solicite um orçamento com a gente, sem compromisso. Estamos dispostos a ajudar a sua cervejaria a implementar as melhores metodologias e a destacar-se no mercado.

*Conte com a Levteck  
para fermentar  
suas ideias!*



Fale com a nossa equipe e conheça nossos produtos e serviços