

**UNIVERSIDADE DO VALE DO RIO DOS SINOS - UNISINOS
UNIDADE ACADÊMICA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO NUTRIÇÃO E ALIMENTOS**

DEBORA GASTALDELLO

MICROCERVEJARIAS:

**Avaliação de Boas Práticas de Fabricação e Incidência de Bactérias no
Processo**

**São Leopoldo
2015**

Debora Gastaldello

MICROCERVEJARIAS:

Avaliação de Boas Práticas de Fabricação e Incidência de Bactérias no Processo

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre em nutrição e alimentos pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Universidade do Vale do Rio dos Sinos – Unisinos.

Orientador: Prof. Dr. Luís Fernando da Costa Medina

São Leopoldo

2015

Ficha catalográfica

G255m Gastaldello, Débora

Microcervejarias : avaliação de boas práticas de fabricação e incidência de bactérias no processo / por Débora Gastaldello. – 2015.

52 f. : il., 30 cm.

Dissertação (mestrado) — Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, 2015.

Orientação: Prof. Dr. Luís Fernando da Costa Medina.

1. Boas práticas. 2. Micro-organismos. 3. Cerveja.
4. Microcervejarias. I. Título.

CDU 663.4

Catálogo na Fonte:

Bibliotecária Vanessa Borges Nunes - CRB 10/1556

Debora Gastaldello

MICROCERVEJARIAS:

Avaliação de Boas Práticas de Fabricação e Incidência de Bactérias no Processo

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre em nutrição e alimentos pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Universidade do Vale do Rio dos Sinos – Unisinos.

Aprovado em: ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Luís Fernando da Costa Medina – Universidade do Vale do Rio dos Sinos

Cauré Portugal - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo

Letícia Sopeña Casarin – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dedico este trabalho a Daniel Formolo, meu amor, marido e amigo.
Foste meu incentivador e meu exemplo, tens minha total admiração pelo homem e
profissional que és!
Obrigada Daniel! Tua presença, ajuda e apoio foram fundamentais.
Para sempre Te Amo!

AGRADECIMENTOS

Agradeço em especial ao meu professor e orientador Dr. Luís Fernando da Costa Medina, pela orientação, dedicação e paciência desde o início. Teus ensinamentos permanecerão para sempre.

Agradeço à Equipe do Laboratório de Biologia Molecular da Universidade do Vale do Rio dos Sinos, pela acolhida e paciência. Foi um grande desafio para mim entrar no mundo da Biologia e vocês me ajudaram muito.

Obrigada à minha mãe Rosa, pelo apoio e presença. Ao meu pai Walter “in memoria”. Os ensinamentos de vocês de respeito ao próximo, humildade e luta são fundamentais para cada etapa da minha vida.

Por fim, agradeço infinitamente às três microcervejarias que abriram suas portas para a realização deste estudo. Obrigada por me receberem sempre com tanto carinho e atenção. Sem vocês este trabalho não teria se realizado.

"A cerveja é a prova viva de que Deus nos ama e nos quer ver felizes."

Benjamin Franklin

RESUMO

Nos últimos anos, com a globalização do mercado, o consumidor passou a ter acesso a uma grande diversidade de produtos. Isso tem provocado uma mudança no perfil alimentar do consumidor, o qual busca no mercado produtos diferenciados. Em relação ao mercado cervejeiro, a produção da cerveja artesanal também vem crescendo, oportunizando a produção de diferentes tipos de cervejas para um público cada vez mais exigente. Pensando nesse mercado, este trabalho teve por objetivo avaliar a presença de micro-organismos em equipamentos utilizados no processo de produção da cerveja, bem como avaliar as microcervejarias nos requisitos de Boas Práticas. A pesquisa foi realizada em três microcervejarias, denominadas A, B e C, onde foram pesquisados quatro equipamentos que entram em contato com a cerveja direta ou indiretamente após a fervura do mosto cervejeiro. Foram identificados diferentes micro-organismos em duas microcervejarias, e o percentual de adequação dos requisitos legais referente às Boas Práticas de Fabricação foram respectivamente 77%, 93% e 91%. Os resultados mostram que a aplicação de Boas Práticas é essencial na garantia de um produto de qualidade, em especial, a sanitização dos equipamentos e utensílios.

Palavras-chave: Boas Práticas, Micro-organismos, Cerveja, Microcervejarias.

ABSTRACT

In recent years, the market globalization promoted wide access to new products to consumers. This has caused a shift in consumer food profile, who seeks to differentiated products. Craft beer production is also growing in quantity and variety, influenced by the new consumer increasingly demanding. Thinking in this market, this study aimed to evaluate the presence of microorganisms in equipment of the beer production process and evaluate the microbreweries in Good Manufacturing Practices. This work was conducted in three microbreweries, named A, B and C, analyzing four equipment that comes into contact directly or indirectly with beer after brewing the beer wort. The research identified different microorganisms in the two microbreweries, which showed percentage of adequacy of legal requirements relating to Good Manufacturing Practices respectively of 77%, 93% and 91%. The results show that the application of Good Practices of Manufactory is essential to quality insurance, especially the sanitization of equipment and utensils.

Keywords: Good Manufacturing Practices, Microorganisms, Beer, Microbreweries.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Processo de produção da cerveja e possíveis pontos de contaminação.	18
Figura 2 – Percentual de atendimento das microcervejarias referente ao grupo das Instalações.....	29
Figura 3 – Percentual de atendimento das microcervejarias referente ao grupo Higiene Pessoal.....	30
Figura 4 – Percentual de atendimento das microcervejarias referente ao grupo de Abastecimento de Água.....	30
Figura 5 – Percentual de atendimento das microcervejarias referente ao grupo de Equipamentos e Limpeza.	31
Figura 6 – Percentual de atendimento das microcervejarias referente ao grupo que avaliou os requisitos de Processo de Produção.....	31
Figura 7 – Percentual de atendimento das microcervejarias referente ao grupo de Combate às Pragas.	32
Figura 8 – Percentual de atendimento das microcervejarias referente ao grupo de Subprodutos e Resíduos.	32
Figura 9 – Percentual de requisitos legais atendidos e não atendidos pelas microcervejarias.....	33
Figura 10 – Pontos de coleta nas microcervejarias.....	34
Figura 11 – Amplificação do gene 16S rDNA das amostras coletadas.	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Perfil produtivo das microcervejarias selecionadas.....	28
Tabela 2 – Primeira coleta.....	34
Tabela 3 – Segunda coleta.....	34
Tabela 4 – Terceira coleta.....	35

LISTA DE ABREVIATURAS

APPCC - Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle

BPF - Boas Práticas de Fabricação

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

FAO – Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

IN - Instrução Normativa

MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

OMS – Organização Mundial da Saúde

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

ZON - *Zearalenona*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	12
2.1	Objetivo Geral	12
2.2	Objetivos Específicos	12
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
3.1	História da Cerveja	13
3.2	A Cerveja no Brasil.....	14
3.3	Matéria-Prima na Produção da Cerveja	15
3.4	Tipos de Fermentação Cervejeira	16
3.5	O Processo de Fabricação da Cerveja	17
3.6	Instalações da Indústria Cervejeira	19
3.7	Contaminação Microbiana em Cerveja.....	20
3.8	Boas Práticas de Fabricação.....	22
3.9	Legislação Brasileira Relacionada.....	23
4	MATÉRIAS E MÉTODOS	25
4.1	Coletas e Processamento das Amostras	25
4.2	Extração de DNA Total	26
4.3	Identificação Molecular dos Isolados	26
5	RESULTADOS	28
5.1	Resultados Referentes às Boas Práticas de Fabricação.....	28
5.2	Análises Microbiológicas.....	33
5.3	Identificação dos Micro-Organismos.....	35
6	DISCUSSÃO	37
7	CONCLUSÃO.....	44
	REFERÊNCIAS.....	45
	ANEXO A – FORMULÁRIO DE REQUISITOS DE BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO.....	50

1 INTRODUÇÃO

A cerveja já foi considerada a bebida dos deuses. Sua produção iniciou há cerca de 10 mil anos, sendo posteriormente preparada em mosteiros até chegar à indústria. O Brasil é o terceiro produtor mundial de cerveja, elaborando 12,4 bilhões de litros, e com um consumo de 60 litros per capita/ano. A China (45 bilhões de litros) e Estados Unidos (35 bilhões de litros) são, respectivamente, o primeiro e segundo produtores mundiais.

Após alguns anos na busca de produtos diferenciados, ocorreu o ressurgimento das microcervejarias, que têm como característica menores volumes de produção, elaboração de cervejas “artesanais” e por seu consumo poder ocorrer no local de fabricação ou em bares e restaurantes, atraindo um público disposto a experimentar novos aromas e sabores.

No Brasil, o fenômeno das microcervejarias surgiu na segunda metade da década de 1980, com dezenas de pequenos empreendimentos que se estabeleceram principalmente no Sul e Sudeste. A cada ano surgem em média 30 novas microcervejarias, somando mais de 170 instaladas no país, estando concentradas principalmente nos estados de São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Paraná e Goiás.

Os procedimentos legais exigidos na indústria de alimentos e bebidas orientam a implantação e implementação referente às Boas Práticas de Fabricação no processo produtivo com o objetivo de fornecer um produto adequado sob o ponto de vista legal e microbiológico. Esta ferramenta orienta os empresários nas condições físicas do estabelecimento, aquisição e armazenamento da matéria-prima, controles de processo como tempo e temperatura, controle de pragas, manejo de resíduos, abastecimento de água, controles e treinamento relacionados aos manipuladores, limpeza e higienização dos equipamentos e utensílios. Estes requisitos são fundamentais para preservar a qualidade do produto final na busca constante pela qualidade na indústria de alimentos e bebidas, com o foco na consolidação da marca no mercado e fidelização de seus clientes.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho tem por objetivo avaliar possíveis contaminantes no processo de elaboração da cerveja em diferentes microcervejarias da região metropolitana de Porto Alegre nos requisitos de Boas Práticas de Fabricação estabelecidos pela legislação.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Mapear o processo de produção para identificar possíveis pontos de contaminação;
- b) Avaliar a presença de micro-organismos potencialmente contaminantes em diferentes equipamentos e etapas da fabricação de cervejas;
- c) Identificar os micro-organismos isolados nos equipamentos e etapas;
- d) Avaliar as microcervejarias no requisito de Boas Práticas estabelecidos pela Instrução Normativa n° 05, de 31 de Março de 2000.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 História da Cerveja

A cultura cervejeira teve suas origens no Oriente Médio e no Egito. Em meados do século XIX, arqueólogos encontraram vasos preservados com resquícios de cevada, que representou um achado para a história da cerveja, contribuindo como valor simbólico e indicando o consumo da cerveja naquele período (Morado, 2009).

Os primeiros campos da cultura de cereais surgiram na Ásia Ocidental por volta de 9.000 a.C. Os grãos eram colhidos e transformados em farinha para produzirem pão e cerveja. Assim como o pão, a cerveja alimentava as famílias, sendo chamada de pão líquido, como também foi considerada alimento durante a sua história de mais de seis mil anos como integrante obrigatório da dieta familiar desde os primórdios da humanidade (Arnold, 2005).

Existem indícios de que a fabricação da cerveja já era uma atividade bem estabelecida na época em que o homem começou a construir cidades (6.000 a.C.). Além disso, há documentos que possuem símbolos associados à cerveja como mercadoria e moeda de troca. O mais antigo registro encontrado sobre uma cervejaria diz que em Tebas (Egito), no ano de 3.400 a.C., eram fabricados dois tipos da bebida: a “cerveja dos notáveis” e a “cerveja de Tebas” (Bamforth, 2003; Arnold, 2005).

Na sociedade babilônica, o cervejeiro era um homem de reputação, dispensado do serviço militar sob a condição de suprir os exércitos com sua bebida. Nos bordéis, cada prostituta fazia sua própria cerveja para ser oferecida aos seus clientes. Inicialmente, a cerveja era uma bebida nutritiva, servida como alimento, e por seu efeito inebriante, logo se tornou sagrada ou, de alguma forma, relacionada aos deuses. Por não se conhecer o efeito do álcool, a sensação de euforia decorrente da embriaguez sempre levou o ser humano a estabelecer uma relação entre a bebida e aspectos místicos religiosos (Bamforth, 2003; Arnold, 2005).

Na era da globalização, a abertura dos mercados pôs à disposição uma grande variedade de alimentos, permitindo que se possa experimentar novos sabores e aromas de diferentes nações (Consonni; Cagliani, 2010). Não foi diferente no mercado cervejeiro, e a globalização propiciou fusões de grandes cervejarias, de

forma que a indústria da cerveja consolidou-se em grandes grupos pelo mundo. As três megacervejarias, as quais produzem mais de 100 milhões de hectolitros/ano, detêm quase 50% da produção mundial de cervejas, possuindo marcas distribuídas em diversos países (Morado, 2009).

3.2 A Cerveja no Brasil

A definição de cerveja no Brasil se dá pelo Decreto nº 2.314, de 4 de setembro de 1997, Art. 64 (Brasil, 1997): “Cerveja é a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação da levedura, com adição de lúpulo”.

No Brasil, a primeira cerveja fabricada foi a Bohemia, em 1853, marca hoje produzida pela AmBev, (American Beverage Company - AMBEV, 2010), fazendo com que o país esteja entre os quatro maiores fabricantes de cerveja do mundo, com um volume anual de cerca de 10,34 bilhões de litros. As companhias produtoras foram responsáveis por um faturamento de aproximadamente R\$ 25,8 bilhões em 2007 (Fonte: Sindicerv, 2014).

O crescimento no Brasil se justifica pela tendência de consolidação de grandes cervejarias que pode ser constatada desde o ano de 1999, com grandes aquisições e fusões do setor como a AmBev. A AmBev era a quarta maior cervejaria do mundo, inicialmente com a fusão das cervejarias Antártica e Brahma, e aquisição posterior de diversas cervejarias pelo Brasil e pelo mundo. Atualmente, possui fábricas em 14 países das Américas e distribuição das suas cervejas em quase todos os países, além de aquisições de grandes cervejarias (Ferreira et al., 2011).

Com o crescimento e desenvolvimento do mercado de cerveja no Brasil, surge o movimento contrário às grandes fábricas de cerveja, ressurgindo, neste contexto, as cervejarias artesanais, resgatando o prazer de produzir e degustar a cerveja, experimentar novos sabores e valorizar a cerveja na gastronomia, ou seja, um produto com características próprias e produção em menor escala (Ferreira et al., 2011).

Outro dado que mostra a importância e a participação no mercado de cervejas especiais elaboradas pelas microcervejarias foi a taxa de crescimento de 15% ao ano, superando os 7% das cervejas produzidas em larga escala no ano de 2011 (Reinold, 2011). Esse crescimento mostra aos empresários e consumidores a

importância de controles no processo, evitando perdas de qualidade e financeiras, consolidando as microcervejarias e as marcas dos produtos no mercado.

3.3 Matéria-Prima na Produção da Cerveja

A cerveja é definida como uma bebida fermentada produzida a partir de grãos de cevada maltada, lúpulo, levedura e água (Hughes; Baxter, 2001; Keukeleire, 1999).

A matéria-prima reflete nas características e qualidade do produto final. A seleção de grãos é fundamental devido à possibilidade de contaminação por micotoxinas, representada pela *zearalenona* (ZON) produzida por espécies do gênero *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. crookellense*, e *F. acuminado*), que ocorre em grãos de milho, cevada, aveia, trigo e sorgo. Os riscos de contaminação ZON é motivo de preocupação internacional e tornou-se um problema substancial na produção de cerveja (Mizutani et al., 2011). Embora com risco baixo, deve-se estar atento à qualidade da matéria-prima no recebimento, armazenamento e antes do uso (Inoue et al., 2013).

A cevada é uma das culturas fundadoras da agricultura, iniciou no Vale do Rio Nilo, no Egito, há cerca de 18 mil anos (Forsythe, 2013), e hoje é o quarto grão de cereal mais importante no mundo (Mrízová, 2014) e utilizada como malte moído para a produção do mosto cervejeiro.

A malteação do grão da cevada é um processo que envolve reações bioquímicas e fisiológicas degradando a estrutura dos grãos. Este processo é composto por três etapas: maceração, germinação e secagem (Justé et al., 2014).

Em relação à água, na indústria cervejeira a água é utilizada em abundância, como ingrediente em maior volume na cerveja e na limpeza e desinfecção de equipamentos e utensílios.

No Brasil, a Portaria 2914, de 12 de Dezembro de 2011, dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para o consumo humano e seu padrão de potabilidade, cabendo às indústrias atender os requisitos legais exigidos na portaria.

A água de abastecimento público é devidamente tratada e considerada potável. Conduto após entrar na indústria, a potabilidade deve ser atestada pelos estabelecimentos produtores (Tondo e Bartz, 2011).

De acordo com Tondo e Bartz (2011), a água é um dos principais fatores para a produção de alimentos seguros e cuidados especiais devem ser direcionados à qualidade da mesma.

Em relação ao lúpulo, utilizado no século XVIII apenas como conservante da cerveja para manter o frescor e a qualidade durante longas viagens, tornou-se responsável por proporcionar sabor amargo e delicado à cerveja, da mesma forma que mantém seu efeito conservante, tornando a cerveja um meio não atrativo de desenvolvimento de micro-organismos (Keukeleire, 1999; Schurr, et al., 2015A). Os compostos ativos de aroma de lúpulo estão presentes nas glândulas das flores fêmeas, constituído de óleos essenciais e ácidos chamados de lupulona e humulonas. Os óleos essenciais apresentam mais de duzentos compostos que contribuem para o sabor diferenciado da cerveja (Silva et al., 2009).

Quanto às leveduras, responsáveis pela fermentação, são fungos unicelulares que pertencem a diferentes grupos, entre estes, espécies de *Saccharomyces* têm sido amplamente utilizadas na indústria para a preparação de alimentos e bebidas (Sicard; Legras, 2011). A *Saccharomyces cerevisiae* tem vantagens decisivas em processos industriais devido à sua tolerância ao álcool e condições de fermentação (Geberoso et al., 2014).

Ainda sobre a matéria-prima, a Instrução Normativa nº 05, de 31 de Março de 2000, estabelece critérios importantes como de não aceitar matéria-prima ou ingrediente que contenham insetos, parasitas, micro-organismos ou substâncias tóxicas, que não possam ser reduzidas a níveis aceitáveis pelos procedimentos normais de classificação, preparação ou elaboração. Nas dependências do estabelecimento, o armazenamento deve garantir condições que evite a deterioração, proteja contra a contaminação e reduza suas perdas ao mínimo (Brasil, 2000), tais como umidade e acesso de roedores e pragas urbanas.

3.4 Tipos de Fermentação Cervejeira

A elaboração dos diferentes estilos de cervejas está relacionada à combinação dos diferentes ingredientes (maltes, lúpulos, espécies de leveduras), além do processo de fermentação, que exige controles específicos de tempo e temperatura. Uma ampla gama de substâncias, como ésteres de aroma, é produzida durante a fermentação e são vitais para o sabor complexo da cerveja. A temperatura

de fermentação e o pH têm influência sobre a produção de compostos secundários e o desempenho geral da fermentação (Hiralal et al., 2013). Os sabores de diferentes tipos de cerveja são derivados de uma escolha criteriosa das matérias-primas.

De acordo com Baert et al. (2012), são três os principais processos para obtenção dos diferentes estilos de cerveja:

- a) **Cervejas de alta fermentação (tipo Ale):** Realizada em temperatura controlada entre 14°C e 23°C pelo período de 5 a 7 dias. A levedura utilizada nesta fermentação é a *Saccharomyces cerevisiae*. Este processo de fermentação caracteriza as cervejas tipo Ale em clara, suave, amarga e frutada;
- b) **Cervejas de baixa fermentação (tipo Lager):** Realizada em temperatura controlada entre 6°C e 12°C pelo período de 8 a 14 dias, a levedura utilizada nesta fermentação é a *Saccharomyces uvarum*. Este processo de fermentação caracteriza as cervejas tipo Lager em clara, sabor amargo e simples;
- c) **Fermentação espontânea (Lambic, Gueuze, Faro):** As leveduras selvagens existentes no ar ambiente são responsáveis pela fermentação (Fonte: Cervesia).

3.5 O Processo de Fabricação da Cerveja

De acordo com Morado (2009), a cerveja começa a ser produzida fora da cervejaria quando o grão é escolhido, sendo a cevada o cereal mais utilizado para a produção.

A malteação dá início ao processo de fabricação da cerveja com a pré-germinação, onde os grãos são umedecidos, o que resulta no amolecimento do amido e na ativação de enzimas presentes. Em seguida é preciso secar o grão para interromper o processo de germinação, gerando o malte (Morado, 2009).

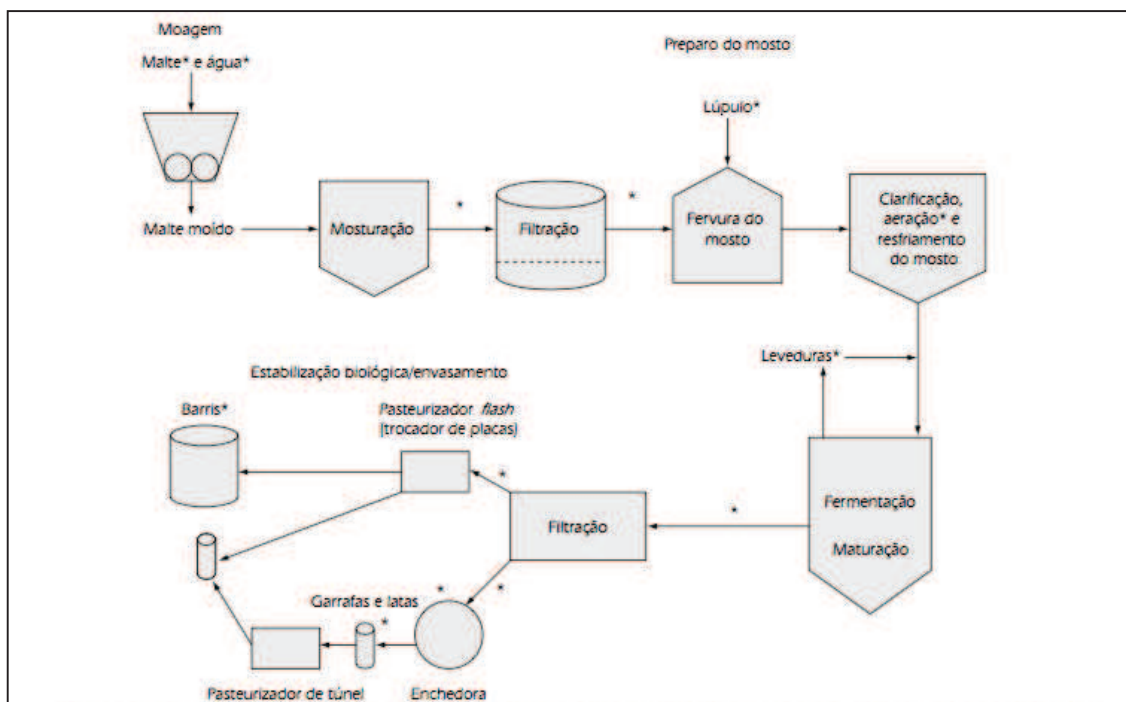
Apesar de existirem variações na forma de elaboração e dependendo do tipo de cerveja a ser produzida, o processo completo consiste basicamente em quatro etapas:

- a) Malteação - germinação da cevada;

- b) Produção do mosto cervejeiro - extração e hidrólise dos componentes da cevada malteada seguido de uma separação dos componentes insolúveis e posterior fervura com a adição de lúpulo;
- c) Fermentação - dividida em fermentação primária e maturação;
- d) Processamento final - filtração, estabilização, engarrafamento.

Para melhor entendimento e visualização em relação ao processo de fabricação da cerveja, a Figura 1 mostra as etapas de produção e possíveis pontos de contaminação na indústria.

Figura 1 – Processo de produção da cerveja e possíveis pontos de contaminação



Fonte: Dragone et al., 2007.

* Possíveis pontos de contaminação.

A monitorização de processos de fabricação, incluindo a fermentação, é extremamente importante por causa das alterações que ocorrem rapidamente na composição das amostras durante a produção. (Olesiuk et al., 2012).

A etapa mais lenta do processo é a fermentação, na qual as células livres em suspensão fermentam o mosto. A fermentação é uma das mais antigas formas de conservação de alimentos no mundo (Rhee et al., 2011), e as fermentações alcoólicas têm acompanhado civilizações humanas ao longo de nossa história (Wendland, 2014).

A fermentação primária requer um tempo de aproximadamente sete dias para ser completada e a maturação pode levar várias semanas. Atualmente, com o emprego de elevadas temperaturas de fermentação e linhagens selecionadas de leveduras, é possível produzir cervejas entre 12 e 15 dias (Dragone et al., 2007).

Na etapa da fermentação as leveduras convertem os açúcares simples em compostos secundários, incluindo álcool e ácido láctico. Este processo é empregado em todo o mundo como um meio de elaborar produtos, melhorar o sabor, aumentar valor nutricional e preservar alimentos e bebidas. A fermentação é mediada por uma variedade de micro-organismos, principalmente leveduras, que convertem carboidratos em dióxido de carbono e álcool (Colehour et al., 2014).

Na fabricação da cerveja, a combinação de diferentes ingredientes e o processo de fermentação faz dela um produto complexo com centenas de compostos, sendo os mais abundantes a água, o etanol e os carboidratos (Hughes; Baxter, 2001). É possível criar através destas combinações uma grande variedade de estilos de cervejas, com sabores diferenciados, dentro do permitido na Instrução Normativa nº 54, de 5 de Novembro de 2001. Esta instrução fixa os padrões de identidade e qualidade mínimos da cerveja.

Em todas as etapas de produção os cuidados com a higiene de equipamentos e utensílios são fundamentais para o não desenvolvimento de micro-organismos e manter a qualidade do produto final. Assim, a mão de obra dentro das indústrias cervejeiras precisa atender aos requisitos legais em relação aos cuidados com a manipulação durante as etapas do processo. A equipe de trabalho deve conhecer os riscos aos quais a cerveja é exposta e seguir as normas de Boas Práticas de Fabricação, que estão definidas na Instrução Normativa nº 05, de 31 de Março de 2000.

3.6 Instalações da Indústria Cervejeira

A produção da cerveja, ao longo de sua história, passou pela produção doméstica, utilizada até hoje por apreciadores que fazem sua cerveja, mosteiros cervejeiros até as instalações cervejeiras. (Arnold, 2005; Morado, 2009).

No Brasil, a industrialização da cerveja exige cuidados específicos que devem ser atendidos. O MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento é o órgão que fiscaliza a atividade nas indústrias e tem estabelecido na Instrução

Normativa nº 05, de 31 de Março de 2000, o regulamento técnico para a fabricação de bebidas, onde define os requisitos em relação às instalações das indústrias de cerveja (Brasil, 2000) a serem cumpridos independente de sua capacidade produtiva.

O local de instalação de uma indústria de cerveja deve ser avaliado de forma que esteja em zona isenta de odores, fumaça, poeira e contaminantes. A área que contorna o estabelecimento deve ser livre de focos insalubres como resíduos cervejeiros, material de construção, materiais em desuso, pavimentada e de fácil limpeza, mantendo o padrão higiênico sanitário (Brasil, 2000). É importante o cuidado referente à escolha do material para que o mesmo não transmita substâncias indesejáveis à bebida, possibilitando a limpeza e desinfecção adequada, bem como realizando as operações dentro de um padrão higiênico sanitário (Brasil, 2000). O atendimento aos requisitos legais que envolvem a produção da cerveja garante a indústria, a segurança e a conformidade do produto comercializado.

A indústria cervejeira tornou-se um dos maiores negócios do mundo e é parte importante da economia de vários países inclusive na geração de empregos (Baert et al., 2012).

3.7 Contaminação Microbiana em Cerveja

Assim como a indústria de alimentos e bebidas trabalham com micro-organismos benéficos, existe a preocupação quanto aos aspectos microbiológicos. Conforme Magnússon e colaboradores (2012), a gestão de segurança microbiológica de alimentos visa minimizar o risco de doenças de origem alimentar, já que os riscos de perigos microbiológicos estão bem estabelecidos como preocupação à saúde humana. A segurança alimentar microbiológica está centrada na produção de alimentos mais seguros através de abordagens preventivas, que estão relacionadas a controles como a implementação das Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC).

A cerveja é um ambiente relativamente hostil para muitos micro-organismos. Com propriedades antissépticas devido aos compostos presentes no lúpulo o próprio etanol, pH baixo, baixa concentração de oxigênio e altas concentrações de CO₂. (Hosseini et al., 2010; Bergsveinson et al., 2012; Kern et al., 2014; Schurr et al.,

2015B). Por o etanol ser um potente inibidor do crescimento microbiano, cervejas de baixa graduação alcoólica e de zero álcool têm uma maior susceptibilidade à deterioração (Sakamotoa; Koningsb, 2003; Pittet, 2013).

O ambiente desfavorável ao desenvolvimento microbiano não é suficiente para proteger a cerveja, sendo que certos micro-organismos são capazes de superar essas tensões e podem desenvolver-se no produto. Estes micro-organismos não são prejudiciais e patogênicos à saúde do consumidor, o seu crescimento pode deteriorar a cerveja levando a perdas econômicas para a indústria, devido ao descarte da cerveja. (Sakamotoa; Koningsb, 2003; Pittet, 2013). Entre os contaminantes, espécies bacterianas e algumas leveduras podem crescer na cerveja, causando a turvação do produto, produzindo biofilmes na superfície e alterações indesejáveis no sabor e aroma (Hosseini et al., 2010; Kern et al., 2014; Schurr et al., 2015).

As bactérias ácido-lácticas estão entre as principais que podem se desenvolver na cerveja (Madigan, 2012), principalmente as dos gêneros *Lactobacillus*, *Pediococcus*, e *Pectinatus* (Kern et al., 2014; Douillard; Vos, 2014). Estudos mostram que os gêneros *Lactobacillus* e *Pediococcus* são reconhecidos como bactérias comuns e perigosas para cervejarias, uma vez que são responsáveis por aproximadamente 70% dos incidentes de deterioração na cerveja (Dragone et al., 2007).

Contaminação por bactérias ácido-lácticas não são uniformes, já que diferentes linhagens de uma mesma espécie podem ou não crescer na cerveja, constituindo um problema de difícil detecção (Pittet, 2013). De acordo com Sakamotoa e Konings, (2003), os testes para identificar os micro-organismos contaminantes podem levar de uma semana até um mês, transcorrido esse tempo, o produto já está no mercado, tendo as empresas recolhem os produtos dos pontos de venda.

Em um estudo realizado para avaliação da resistência de *Pediococcus* em cerveja, foram avaliados 29 isolados de *Pediococcus*, e 44,8%, ou seja, 13 amostras foram capazes de crescimento na cerveja (Haakensen et al., 2009).

De acordo com Jay (2005), as alterações que podem ocorrer na cerveja devido à contaminação por bactérias são:

- a) Viscosidade: líquido viscoso e textura oleosa causada pelas bactérias *Acetobacter*, *Lactobaccilus*, *Pediococcus cerevisiae* e *Gluconobacter oxydans*;
- b) Doença de Sarcinas: produz na cerveja odor semelhante ao mel e é causada por *Pediococcus cerevisiae*;
- c) Acidez: a bactéria *Acetobacter sp.* oxidam o etanol até o ácido acético. Essa acidez se origina devido ao aumento dos níveis deste ácido, que é o produto final do ciclo de transformação da bactéria;
- d) Turbidez: junto com alguns odores desagradáveis são causadas pela bactéria fermentadora *Zimomonas anaerobia* e por leveduras.

Em relação à contaminação, um aspecto importante dentro das indústrias é a formação de biofilme. Os biofilmes são compostos de várias camadas de células microbianas que levam a criação de barreiras físicas devido aos micro-organismos aderidos à superfície (Soncine et al., 2003).

Embora os biofilmes geralmente não causem impacto sobre o produto, em um determinado estágio podem ser colonizados por outros micro-organismos, levando à deterioração do produto (Timke, 2005).

Os aspectos relacionados aos produtos de limpeza utilizados e à forma de limpeza e sanitização dos equipamentos estão diretamente ligados à formação de biofilmes bacterianos. Apesar de métodos de higienização aplicados na indústria, serem eficientes, pode ocorrer a remoção deficiente de sujeira dos equipamentos e utensílios, favorecendo a formação de biofilme (Figueiredo et al., 2009).

A formação do biofilme nos equipamentos pode levar a deterioração da cerveja com perda de qualidade e descarte do produto pela indústria, e como consequência prejuízo financeiro.

Dessa forma, a descrição exata do processo de limpeza, o produto utilizado e a concentração correta de detergentes e sanitizantes são protocolos indispensáveis nas indústrias.

3.8 Boas Práticas de Fabricação

As Boas Práticas de Fabricação abordam princípios fundamentais, procedimentos e meios necessários para um ambiente de produção com qualidade aceitável. Os requerimentos de Boas Práticas de Fabricação foram desenvolvidos

por órgãos governamentais, pelo comitê de Higiene dos Alimentos do *Codex Alimentarius* (FAO/OMS) e pelas indústrias de alimentos (Forsythe, 2013).

De acordo com Tondo e Bartz (2011), a contaminação dos alimentos pode ocorrer por contaminantes físicos, químicos e microbiológicos, sendo as Boas Práticas de Fabricação o instrumento utilizado para diminuir as fontes de contaminação dos produtos elaborados.

Conforme a legislação brasileira as Boas Práticas de Fabricação é a ferramenta utilizada para obtenção de produtos inócuos, saudáveis e sãos (Brasil, 2005).

Em relação ao controle de Boas Práticas de Fabricação em microcervejarias, a Instrução Normativa nº 05, de 31 de Março de 2000, estabelece os requisitos gerais e essenciais de higiene e de boas práticas de elaboração para bebidas industrializadas ao consumo humano. É aplicável à pessoa física ou jurídica que possua pelo menos um estabelecimento no qual se realizem atividades de elaboração e industrialização, fracionamento, armazenamento e transporte de bebidas.

A Instrução Normativa nº 05, de 31 de Março de 2000, determina os requisitos relacionados à matéria-prima, condições higiênico-sanitárias dos estabelecimentos, saneamento dos estabelecimentos, higiene pessoal e requisitos sanitários, requisitos de higiene na elaboração, armazenamento e transporte de matérias-primas e produtos acabados.

3.9 Legislação Brasileira Relacionada

Instrução Normativa Nº 05 , de 31 de Março de 2000: Estabelece os requisitos gerais (essenciais) de higiene e de boas práticas de elaboração para bebidas e vinagres, inclusive vinhos e derivados da uva e do vinho, elaborados/ industrializados para o consumo humano.

Instrução Normativa Nº 54, de 5 de Novembro de 2001: Tem por objetivo fixar os padrões de identidade e qualidade mínimos que deverão cumprir os produtos de cervejaria.

Lei Nº 8.918 de 14 de Julho de 1994: Estabelece em todo o território nacional, a

obrigatoriedade do registro, da padronização, da classificação, da inspeção e da fiscalização da produção e do comércio de bebidas.

Decreto Nº 2314, de 4 de Setembro de 1997: Regulamenta a Lei nº 8918, de 14 de Julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas.

Portaria Nº 326, de 30 de Julho de 1997: Aprova o Regulamento Técnico sobre “Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos.

Resolução RDC Nº 275, de 21 de Setembro de 2002: Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos e a lista de verificação das Boas Práticas de Fabricação em estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos.

Portaria Nº 2914, de 12 de Dezembro de 2011: Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Para o presente estudo, três microcervejarias foram avaliadas. Duas na cidade de Porto Alegre e uma na cidade de Novo Hamburgo, as quais foram denominadas cervejarias A, B e C. Onde o processo de fabricação de cerveja foi acompanhado e a coleta de dados foi realizada presencialmente através de perguntas com base na Instrução Normativa nº 05, de 31 de Março de 2000. Os requisitos foram selecionados com o objetivo de auxiliar as cervejarias que participaram da pesquisa, com requisitos de Boas Práticas de Fabricação possíveis de serem adequados na empresa, avaliando um total de 43 requisitos que foram compilados em grupos assim divididos:

- a) Perfil produtivo das microcervejarias;
- b) Instalações;
- c) Higiene pessoal;
- d) Abastecimento de água;
- e) Equipamentos e limpeza;
- f) Processo de produção;
- g) Sistema de combate às pragas;
- h) Subprodutos e resíduos.

As perguntas foram respondidas pelos proprietários em duas microcervejarias e por funcionário designado em uma microcervejaria. As questões foram classificadas como (A) Atendido e (NA) Não Atendido. Os requisitos avaliados de Boas Práticas de Fabricação, de acordo a Instrução Normativa nº 05, de 31 de Março de 2000, estão no Anexo 01.

4.1 Coletas e Processamento das Amostras

Para cada microcervejaria foram realizadas três coletas no período de Agosto à Novembro de 2014. As amostras foram coletadas nos seguintes pontos: a) saída do trocador de calor lado frio; b) mangueira de transferência da cerveja; c) válvula inferior do tanque; e d) mangueira de oxigênio.

As amostras foram coletadas com Swab Individual Estéril 23007 (Absorve), aplicadas sobre placas esterilizadas descartáveis com meio MRS - ágar (Acumedia), contendo 0,2% de Ácido Sórbito (Dinâmica) para inibição de leveduras.

As placas foram incubadas em estufa microbiológica com temperatura de 32°C, por sete dias, no Laboratório de Biologia Molecular, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS).

Após esse período, as colônias foram selecionadas e analisadas através da coloração de Gram e repicadas em 2 ml de meio MRS líquido (Acumedia), sendo incubadas em estufa microbiológica com temperatura de 32°C, por 72 horas.

4.2 Extração de DNA Total

A extração de DNA foi realizada a partir das culturas após 72 horas e baseado no protocolo de extração de DNA descrito por Roy et al., (1992). As suspensões celulares foram centrifugadas, ressuspendidas em tampão de lise e incubadas em banho-maria a 65°C por 30 minutos. Após o período de incubação, a suspensão foi submetida a uma solução de clorofórmio/álcool isoamílico (24:1) por duas vezes consecutivas. O DNA cromossomal foi precipitado pela adição de isopropanol e etanol 70% gelado. O DNA precipitado foi suspenso em 20 µL de água ultrapura e armazenado a - 20°C.

A qualidade das extrações e ampliações foram avaliadas por eletroforese em gel de agarose a 1%.

4.3 Identificação Molecular dos Isolados

A amplificação do gene 16S de rDNA dos isolados foi realizada pela reação em cadeia da polimerase (PCR) em termociclador Mastercycler (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland), com um volume final de cada reação de 20 µL, empregando os primers 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') e MHR1 (5'-CCTTGTTACGACTTCACCC-3') (Lisboa et al, 2006). O tamanho do amplicon gerado foi de 1500 pb. Nas reações foram utilizados os reagentes Taq DNA polimerase 5U/ µL (Fermentas, Burlington, Ontario, Canada), dNTP 1-mM, cloreto de magnésio (MgCl₂) 50mM (CENBIOT – ENZIMAS, Porto Alegre, RS, Brasil), água ultrapura, 1 µL do DNA obtido na extração descrita anteriormente e 1 µL de cada

primer na concentração de 20 pmol. A reação foi realizada nas seguintes condições: desnaturação inicial por 4 min a 94°C, seguida por 30 ciclos de um minuto a 94°C (desnaturação), um minuto a 54°C (hibridização dos primers) e de 2 minutos a 72°C (extensão), e uma etapa final de 10 minutos a 72°C.

Os produtos da PCR foram visualizados em gel de agarose a 1% nas mesmas condições do produto da extração de DNA.

As amostras dos isolados que amplificaram foram purificadas com acetato de amônio. Neste procedimento, para cada 20 µL da PCR foram empregados 7 µL de acetato de amônio a 7 M e 60 µL de etanol absoluto gelado. O material foi incubado a – 20°C por 1 hora, e na sequência as amostras foram centrifugadas por 20 minutos a 4°C a 14000 rpm. O sobrenadante foi removido e o sedimento foi lavado com 100 µL de etanol 70% gelado, centrifugadas novamente por 20 minutos a 4°C a 14000 rpm. Após, o DNA foi submetido à secagem em estufa marca (Quimis) por 30 minutos a 54°C e, em seguida, foi suspenso com 20 µL de água ultrapura e mantido por 2 horas na geladeira.

A qualidade das amostras após purificação foi avaliada em gel de agarose a 1%.

A amplificação do gene DNA16S foram sequenciadas no Laboratório de Biologia Molecular ATCGene Análises Moleculares Ltda. (Porto Alegre). Os eletroferogramas foram analisados no programa Chromas, quanto à qualidade da sequência.

As sequências recuperadas, após o sequenciamento, foram comparadas com o auxílio da ferramenta Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) do National Center for Biotechnology Information (NCBI), disponível no endereço <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, com outras sequências de bactérias presentes no GenBank.

5 RESULTADOS

5.1 Resultados Referentes às Boas Práticas de Fabricação

Os requisitos das avaliações baseados na Instrução Normativa nº 05, de 31 de Março de 2000, estão apresentados em tabelas. A Tabela 1 mostra o perfil produtivo das microcervejarias no período de avaliação realizada em Novembro de 2014.

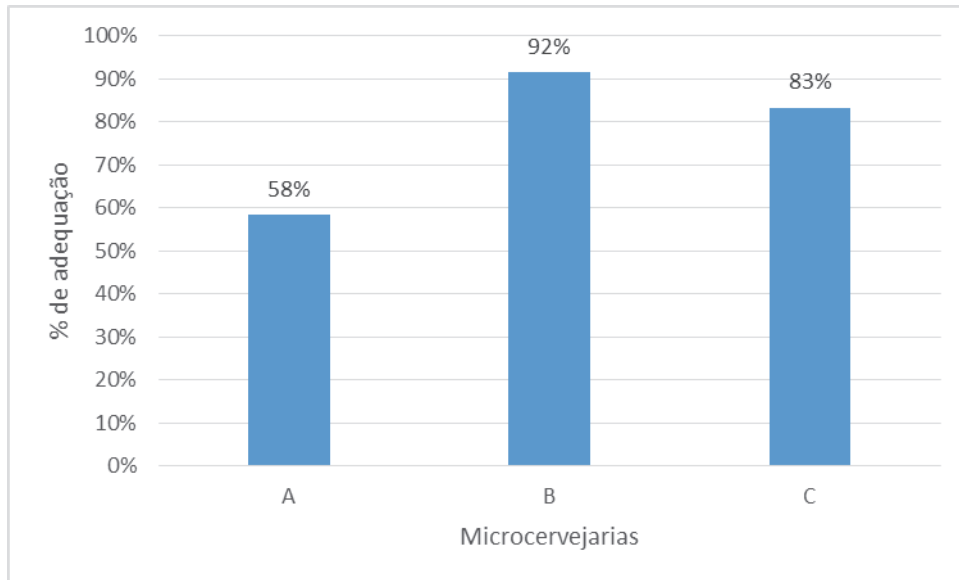
Tabela 1 – Perfil produtivo das microcervejarias selecionadas

Estabelecimento	A	B	C
Produção Atual	6.000 litros/mês	9.000 litros/mês	11.000 litros/mês
Número de funcionários	07	03	05
Início das atividades	Abril / 2010	Dezembro / 2012	Abril / 2013
Total de área construída	312 m ²	194 m ²	300 m ²

Fonte: Elaborada pela autora

A proporção de atendimento dos requisitos referentes às Instalações de cada microcervejaria são apresentados na Figura 2.

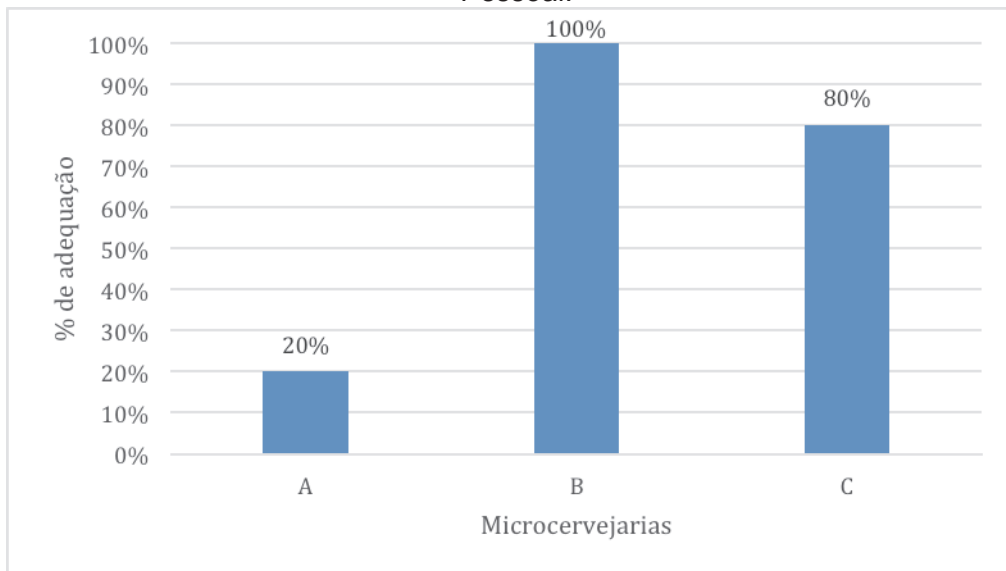
Figura 2 –Percentual de atendimento das microcervejarias referente ao grupo das Instalações.



Fonte: Elaborada pela autora

A Figura 3 ilustra o percentual de atendimento referente ao grupo Higiene Pessoal das microcervejarias.

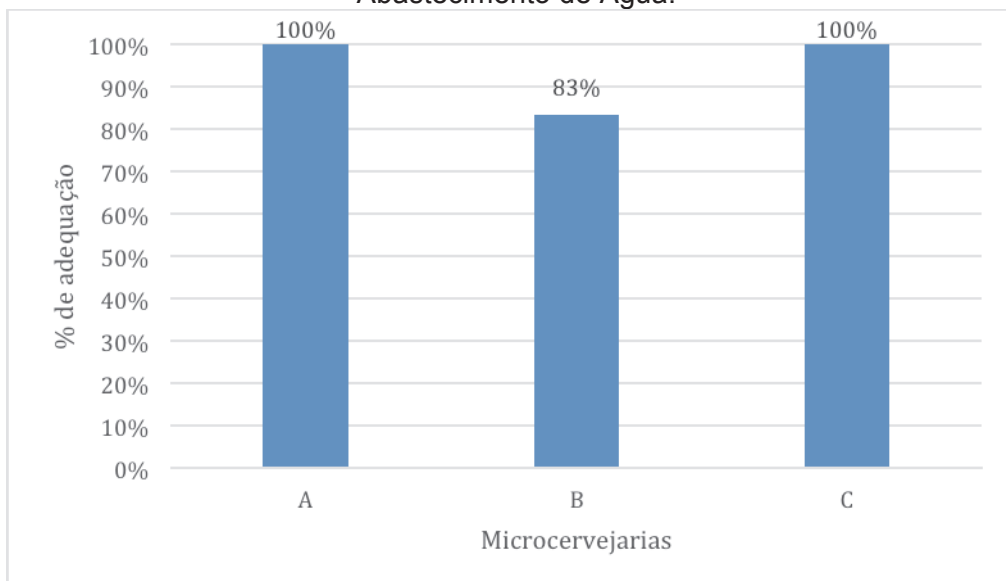
Figura 3 – Percentual de atendimento das microcervejarias referente ao grupo Higiene Pessoal.



Fonte: Elaborada pela autora

Os valores de atendimento referentes ao requisito de Abastecimento de Água de cada microcervejaria estão apresentados no gráfico da Figura 4.

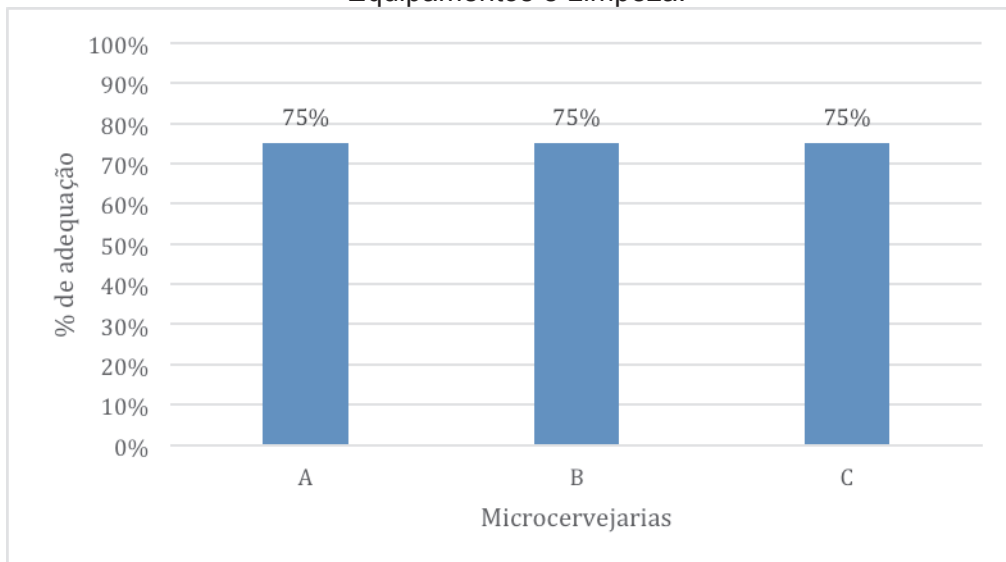
Figura 4 – Percentual de atendimento das microcervejarias referente ao grupo de Abastecimento de Água.



Fonte: Elaborada pela autora

Os valores de atendimento referente ao grupo de limpeza e desinfecção das microcervejarias avaliadas são apresentados no gráfico da Figura 5.

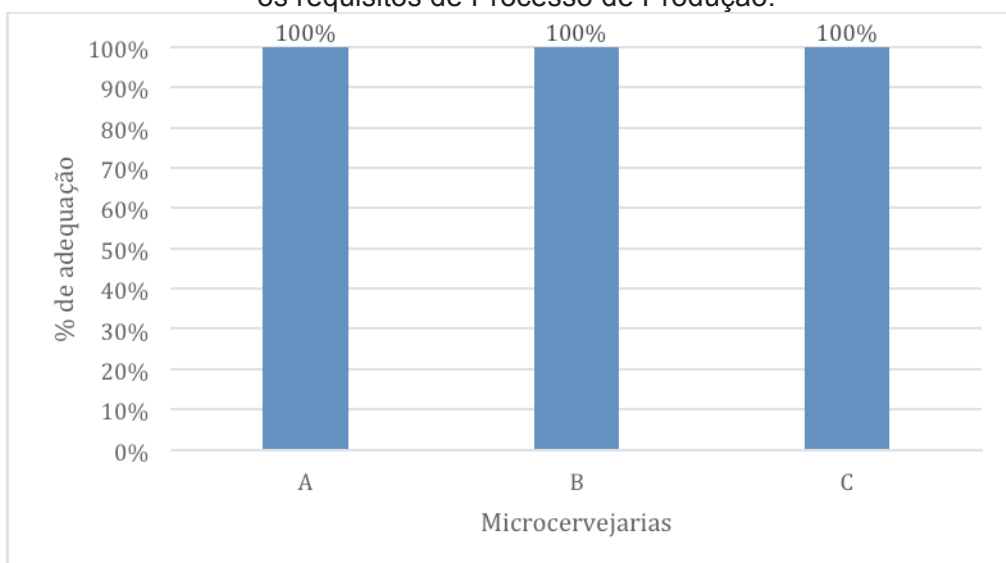
Figura 5 – Percentual de atendimento das microcervejarias referente ao grupo de Equipamentos e Limpeza.



Fonte: Elaborada pela autora

O gráfico da Figura 6 mostra que as microcervejarias atendem plenamente as exigências referentes ao grupo Processo de Produção.

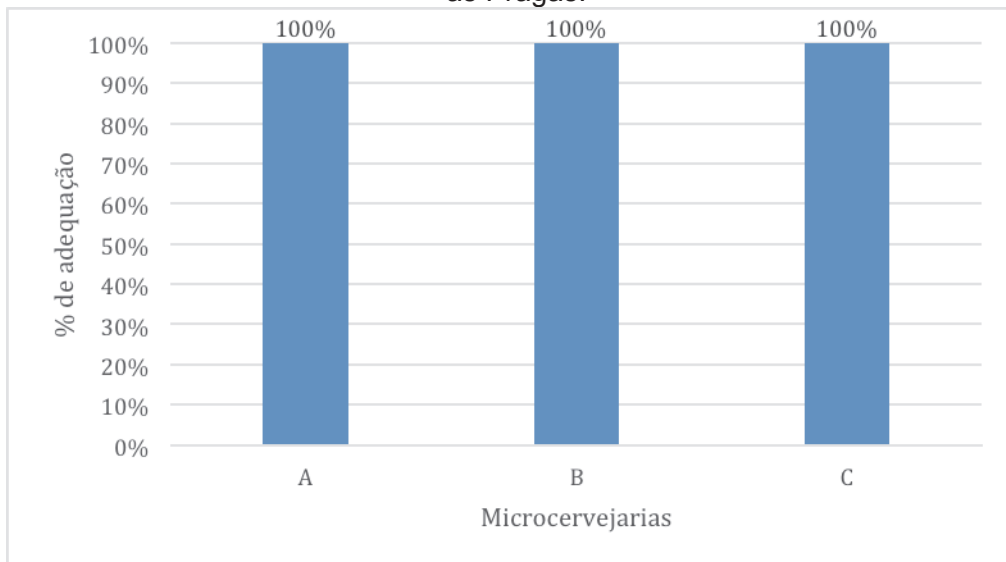
Figura 6 – Percentual de atendimento das microcervejarias referente ao grupo que avaliou os requisitos de Processo de Produção.



Fonte: Elaborada pela autora

O gráfico da Figura 7 – mostra o pleno atendimento das microcervejarias no requisito de combate às pragas.

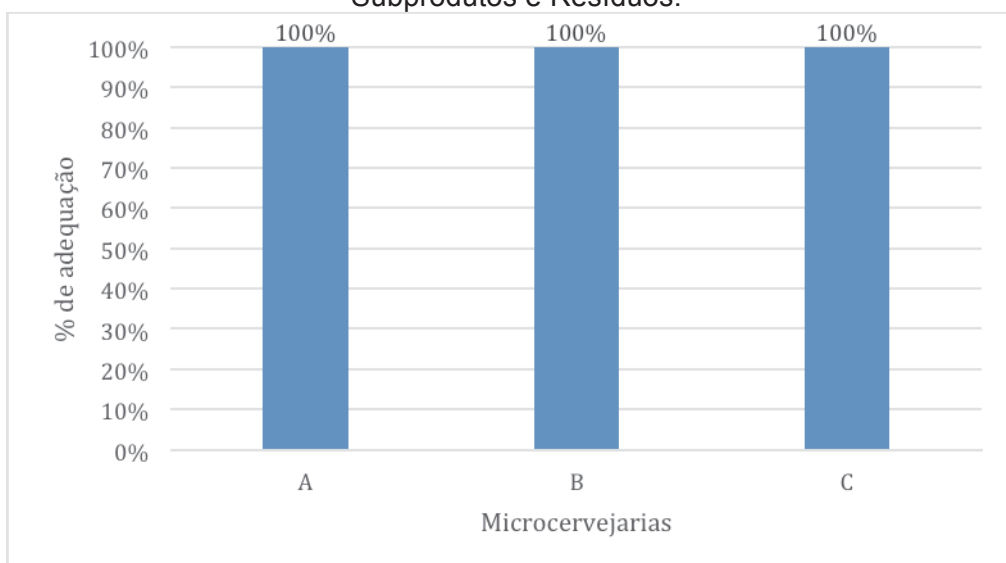
Figura 7 – Percentual de atendimento das microcervejarias referente ao grupo de Combate às Pragas.



Fonte: Elaborada pela autora

O gráfico da Figura 8 mostra o pleno atendimento das microcervejarias em relação ao requisito relacionado aos Subprodutos e Resíduos.

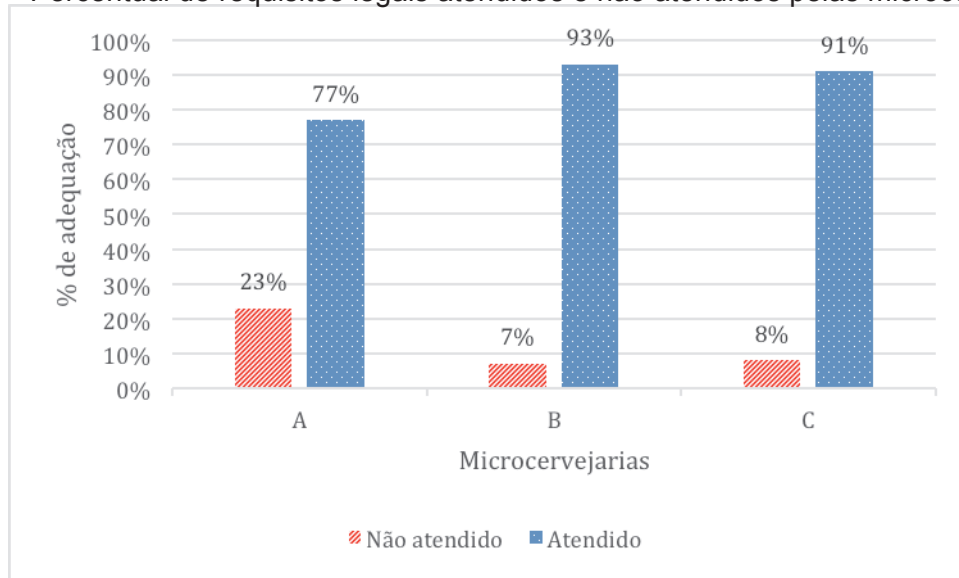
Figura 8 – Percentual de atendimento das microcervejarias referente ao grupo de Subprodutos e Resíduos.



Fonte: Elaborada pela autora

Conforme dados apresentados na Figura 9 e dos resultados descritos acima, as três microcervejarias avaliadas contemplam com percentual elevado os requisitos da Instrução Normativa n° 05, de 31 de Março de 2000. Os percentuais de atendimento menos satisfatórios encontram-se nos grupos de Instalações e Higiene Pessoal, especialmente na microcervejaria A.

Figura 9 – Percentual de requisitos legais atendidos e não atendidos pelas microcervejarias.



Fonte: Elaborada pela autora

5.2 Análises Microbiológicas

A Figura 10 apresenta os pontos de coleta nas respectivas Microcervejarias. As setas em vermelho indicam o local nos equipamentos, onde a coleta foi realizada.

Figura 10 – Pontos de coleta nas microcervejarias.



Fonte: Elaborada pela autora

As Tabelas 2, 3 e 4 apresentam os resultados das análises microbiológicas das três coletas realizadas nas microcervejarias. Na primeira coleta realizada ocorreu crescimento bacteriano em duas microcervejarias avaliadas B e C, em diferentes pontos coletados. Na segunda coleta ocorreu crescimento bacteriano na microcervejaria C em dois pontos coletados. Por fim, na terceira coleta realizada com equipamentos sanitizados, não foi observado crescimento bacteriano no material amostrado.

Tabela 2 – Primeira coleta

Pontos de Coleta	A	B	C
Mangueira de Transferência	-	-	-
Mangueira de O ₂	-	+	-
Trocador de calor lado frio	-	-	+
Válvula de saída do tanque	-	+	-

Fonte: Elaborada pela autora

Tabela 3 – Segunda coleta

Pontos de Coleta	A	B	C
Mangueira de Transferência	-	-	+
Mangueira de O ₂	-	-	-
Trocador de calor lado frio	-	-	+
Válvula de saída do tanque	-	-	-

Fonte: Elaborada pela autor

Tabela 4 – Terceira coleta

Pontos de Coleta	A	B	C
Mangueira de Transferência	-	-	-
Mangueira de O ₂	-	-	-
Trocador de calor lado frio	-	-	-
Válvula de saída do tanque	-	-	-

Fonte: Elaborada pela autora

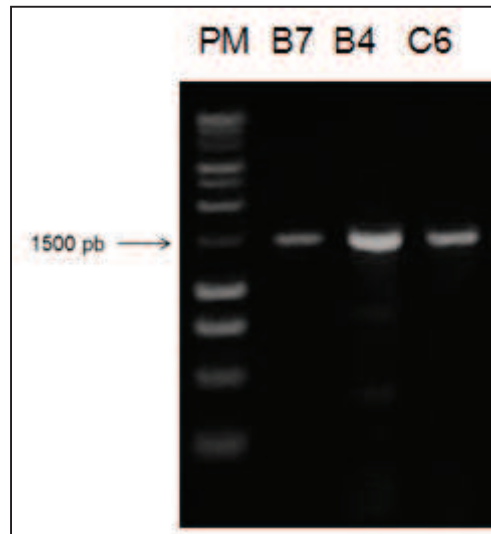
5.3 Identificação dos Micro-Organismos

Quanto à identificação de micro-organismos na microcervejaria B, as bactérias isoladas pertenciam aos gêneros *Gluconobacter sp.* e *Lactobacillus sp.*, respectivamente na válvula de saída do tanque e na mangueira de O₂. Nas demais coletas não houve crescimento bacteriano nas placas de Agar MRS depois de incubadas por 7 dias.

Por fim, na microcervejaria C houve crescimento bacteriano na primeira coleta no trocador de calor lado frio. Na segunda coleta houve crescimento bacteriano na mangueira de transferência e no trocador de calor lado frio, que após o sequenciamento apresentou similaridade com *Bacillus sp.* e *Gluconobacter sp.*, respectivamente. Na terceira coleta não houve crescimento bacteriano nas placas de Agar MRS depois de incubadas por 7 dias.

Na Figura 11 é exemplificada a amplificação do gene 16S rDNA das amostras coletadas. O PM é o peso molecular, e os fragmentos obtidos possuem 1500 pb referente ao gene. A amostra B7 é referente à *Gluconobacter sp.*, a amostra B4 é referente à *Lactobacillus sp.* e a amostra C6 é referente à *Bacillus sp.*

Figura 11 – Amplificação do gene 16S rDNA das amostras coletadas.



B7: *Gluconobacter sp.*

B4: *Lactobacillus sp.*

C6: *Bacillus sp.*

6 DISCUSSÃO

As Boas Práticas de Fabricação é um instrumento que auxilia as empresas na produção de alimentos e bebidas aptos ao consumo humano (Brasil, 2000), incluindo o aspecto de cuidados para evitar contaminações microbiológicas. Esses procedimentos envolvem desde as condições físicas nas indústrias até a expedição do produto.

A implantação das Boas Práticas de Fabricação inclui um diagnóstico dos pré-requisitos bem elaborado, o envolvimento e a conscientização da equipe de trabalho. De acordo com Cusato (2013), em um estudo que implantou um programa de segurança dos alimentos como as BPF e APPCC em uma indústria de laticínios, houve uma redução significativa em uma contagem de fungos e bolores. Este resultado mostra a importância da implantação e implementação dos programas de segurança dos alimentos. De acordo com o mesmo autor, existe a necessidade constante de formação e adesão dos trabalhadores.

Conforme Forsythe (2013), na indústria, a produção de alimentos seguros é responsabilidade dos manipuladores aos gestores, para que o programa tenha adesão e continuidade. O envolvimento de toda a equipe de trabalho está relacionado com o resultado satisfatório do programa.

A globalização e a abertura de mercado (Consonni; Cagliani, 2010), assim como a expansão do mercado de fabricação de cerveja artesanal (Ferreira et al., 2011), ampliaram a necessidade de novas pesquisas e conhecimento do mercado de industrialização deste produto. A pesquisa buscou conhecer as etapas de fabricação, identificar os riscos microbiológicos intrínsecos ao processo e aplicar requisitos referentes à legislação, servindo como auxílio aos empresários na melhoria de seu processo.

O MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - é o órgão que fiscaliza as empresas fabricantes de cerveja no requisito de Boas Práticas de Fabricação. O cumprimento das exigências do MAPA é fator determinante para que a empresa receba a liberação de fabricação e comercialização do produto.

Em relação aos requisitos de Boas Práticas de Fabricação avaliados, as três microcervejarias avaliadas (A, B e C) atingiram percentuais de 77%, 93% e 91%, respectivamente. Este percentual é satisfatório para as indústrias avaliadas, mas se

faz necessária a intervenção para adequação de requisitos que não atenderam a conformidade apresentado na sequência.

Em relação à localização, duas microcervejarias estão em área urbana, pavimentada com via de trânsito adequada, e uma microcervejaria encontra-se em área rural com acesso e contorno do estabelecimento pavimentado, atendendo o requisito legal, com superfícies compactas e pavimentadas (Brasil, 2000).

O resultado referente às instalações físicas das microcervejarias, mostra que a microcervejaria A apresenta-se com percentual de conformidade abaixo das microcervejarias B e C.

Este resultado se deve ao fato desta microcervejaria realizar sua atividade com acesso externo aberto e ausente de barreira física, que possa impedir a entrada e proliferação de insetos, baratas e roedores. Prevenir o acesso destes animais está ligado à higiene do ambiente, preservar a matéria-prima e evitar a circulação destes em utensílios e equipamentos, ou seja, preservar a área produtiva da indústria. Outro fator importante em relação às instalações que foi observado na mesma microcervejaria, está relacionado ao fato de não possuir fiação elétrica embutida e luminárias protegidas contra rompimentos, em desacordo com o requisito legal (Brasil, 2000). Outro fator importante em relação às instalações na mesma microcervejaria está relacionado ao fato de não possuir fiação elétrica embutida e luminárias protegidas contra rompimentos, em desacordo com o requisito legal (Brasil, 2000). O risco deste requisito não está relacionado à contaminação da cerveja e dos equipamentos, porém os estabelecimentos devem atender um programa de limpeza da estrutura física. Estando as instalações elétricas em desacordo, representa risco de acidente ao responsável pela limpeza do ambiente, e em relação aos vapores e umidade nas microcervejarias, podendo ocasionar curto nas instalações elétricas e paradas desnecessárias na produção.

Em relação a microcervejaria C, foi identificado a mesma situação em relação ao acesso externo aberto e ausente de barreira física, a mesma prevenção deve ser utilizada pelo empresário.

Outro requisito referente às instalações, não atendido nas três microcervejarias, é a falta de sistema de exaustão utilizado para troca de ar do ambiente e retirada da umidade. A umidade e a formação de vapores são condições favoráveis para a formação de mofo e desenvolvimento de micro-organismos. O mofo ambiental devido à umidade foi característica visível nas três microcervejarias,

embora não apresente risco direto à cerveja que permanece em equipamentos fechados, pode ocorrer contaminação ambiental, assim como o aspecto de sujeira que o mofo representa é uma apresentação negativa às indústrias.

Na microcervejaria B todos os acessos são fechados e com barreiras físicas (telas) em todas as aberturas, favorecendo a circulação de ar no ambiente sem o risco de acesso insetos, baratas e roedores.

Em relação aos requisitos de higiene pessoal, a microcervejaria B atende todos os requisitos avaliados, demonstrando o cuidado em relação aos manipuladores e na prevenção de possíveis contaminantes. A microcervejaria A se destaca negativamente, atendendo somente o requisito de sanitários e vestiários separados, enquanto a C não atende o requisito de cabelos cobertos.

Quanto aos manipuladores que exercem atividade direta com o produto, no momento da avaliação dos requisitos os mesmos estavam sem proteção nos cabelos em duas microcervejarias, em desacordo com requisito legal (Brasil, 2000). Na microcervejaria A, o manipulador que realizava a moagem do malte e o manipulador na área de produção estavam sem proteção no cabelo, assim como o cabelo não protegido foi observado na microcervejaria C durante a produção.

Na manipulação de alimentos e bebidas, o cabelo deve estar protegido, mesmo que a possibilidade de contaminação do produto seja reduzida durante as etapas de produção e envase, utensílios como mangueiras, garrafas, tampas, bancadas e mesas de apoio podem ser contaminadas com o fio de cabelo ou pelos, caracterizando um perigo físico no produto. A contaminação por este tipo de perigo, relaciona a empresa à falta de cuidado em relação à higiene e manipulação.

Ainda em relação aos manipuladores, em uma das microcervejarias os manipuladores trabalham sem uniformes e sapato protegido, em desacordo com o mesmo requisito que prevê esmerada higiene pessoal (Brasil, 2000). Pode-se relacionar também a ausência de uso de uniformes com a possibilidade de acidentes, devido à umidade do ambiente (risco de queda) e ao risco de queimadura de pele devido ao produto químico utilizado na limpeza e sanitização. A mesma microcervejaria que não atende o requisito em relação ao uso de uniformes, não cumpre o requisito que solicita instalações para a lavagem das mãos nas dependências de elaboração da cerveja (Brasil, 2000), fundamental para higiene do manipulador. Em relação ao uso de uniformes e sapato fechado nas demais microcervejarias, os requisitos estão atendidos.

De acordo com Forsythe (2013), os manipuladores devem ser treinados nos princípios básicos de higiene continuamente. Um exemplo citado pelo mesmo autor demonstra que mais de 1000 partículas de vírus da hepatite A podem ser transmitidos com facilidade de dedos contaminados com fezes para alimentos e superfícies.

É importante que as três microcervejarias, implantem um programa de treinamento aos funcionários, incentivando-os constantemente e avaliados em relação aos requisitos de higiene pessoal e frequência de lavagem de mãos.

Em relação ao abastecimento de água, a Portaria 2914, de 12 de Dezembro de 2011, do Ministério da Saúde, dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e é atendido pelas três microcervejarias, que evidenciaram o cuidado e preocupação em relação à água utilizada na elaboração da cerveja e demais etapas dentro da empresa.

Quanto aos requisitos avaliados referentes ao abastecimento de água (Brasil 2000), as microcervejarias A e C recebem água da rede pública. A microcervejaria B, tem seu abastecimento através de poço artesiano com outorga. A outorga dá direito de uso de recursos hídricos e é um dos seis instrumentos da Política Nacional de Recursos Hídricos, estabelecidos no inciso III, do art. 5º da Lei Federal nº 9.433, de 08 de janeiro de 1997.

Em relação ao mesmo requisito, as três microcervejarias possuem sistema de filtragem para a água de produção da cerveja, onde passa por filtros de carvão ativado e microbiológico. As três microcervejarias realizam a higienização do reservatório semestralmente e análise de potabilidade atestada por laboratório atendendo o requisito legal (Brasil, 2000 e 2011).

Quanto os equipamentos e utensílios utilizados nas três microcervejarias, a escolha do material foi o inox que atende as características exigidas na legislação de: material resistente, liso, impermeável e lavável e não transmitem substâncias tóxicas, odores e sabores (Brasil, 2000). A limpeza dos equipamentos e utensílios deve garantir a ausência de resíduos e biofilmes. De acordo com Casarin (2014), a principal forma de controle de adesão microbiana e a formação do biofilme é a utilização de procedimentos de higienização adequados.

Nas três microcervejarias avaliados a limpeza e sanitização dos equipamentos são realizadas após e antes do uso, mantendo rigorosa limpeza dos

mesmos. Porém, em relação à estrutura física não existe uma periodicidade definida e procedimento escrito, que garanta um adequado padrão de higiene. Foi visível nas três microcervejarias, como já descrito, há formação de mofo evidente. No caso da microcervejaria A, ocorria inclusive formação de teia de aranha no setor de moagem e no equipamento.

De acordo com Forsythe (2013), procedimentos escritos que determinam como a indústria realiza as práticas de higiene são fundamentais para o controle e manutenção sanitária. As três microcervejarias precisam implantar e implementar o programa de limpeza e desinfecção.

No requisito de combate às pragas (Brasil, 2000), as três empresas avaliadas cumprem o requisito legal, e não há relato por parte das mesmas quanto à presença de insetos ou roedores nas instalações, mesmo havendo a possibilidade de acesso e ambiente atrativo.

Como visto em relação à matéria-prima, está diretamente ligada à qualidade do produto. Nas três microcervejarias a matéria-prima é fiscalizada no recebimento e armazenada em local separado da área de manipulação, sobre estrados. Após abertos, permanecem nas embalagens originais e fechados.

Em relação aos locais de armazenamento da matéria-prima, deve-se atender nas três microcervejarias a periodicidade de limpeza. O tipo de resíduo liberado pela cevada por exemplo, forma um pó fino e em grande quantidade. Neste caso a limpeza pode ser realizada limpeza a seco, com auxílio de aspirador de pó, mantendo o ambiente limpo e evitando incrustações localizadas em parede, teto, chão e estrado.

Quanto ao processo produtivo, nas três empresas o fluxo de produção é linear e não ocorre cruzamento entre as etapas, prevenindo dessa forma a contaminação dos produtos e contra fluxo durante a manipulação. As garrafas e tampas são mantidas fechadas, em prateleiras e estrados, e abertas somente no momento do uso. As três microcervejarias avaliadas não reutilizam garrafas, reduzindo a possibilidade de contaminação por produtos químicos ou pela limpeza e sanitização inadequada das mesmas.

O produto pronto é armazenado na refrigeração quando não pasteurizado, e em prateleiras fora da área de produção quando pasteurizado. Duas microcervejarias pasteurizam parte da produção para comercialização.

Em relação aos subprodutos e resíduos gerados durante o processo de

produção da cerveja, as três microcervejarias atenderam plenamente os requisitos com armazenamento e destino final adequado. Quanto aos resíduos são mantidos em coletores fechados e quando retirados da área de produção são armazenados em área externa.

O subproduto gerado é o malte de cevado moído misturado com água, que foi utilizado para a produção do mosto cervejeiro. O mesmo é armazenado em coletores fechados e recolhidos por terceirizados para a utilização em ração animal. Nas três microcervejarias o responsável pelo recolhimento do subproduto é cadastrado e permitido para realizar esta atividade. De acordo com Mussatto (2014), este subproduto possui valiosa composição química, e muitos estudos referem a possível reutilização em alimentos, energia e processos biotecnológicos.

A cerveja artesanal e sua demanda atual no mercado fez com que as empresas aumentassem a sua capacidade produtiva, fato que ocorreu nas três microcervejarias avaliadas no período de realização da pesquisa, quando foram instalados novos tanques nas três empresas e pasteurizadores em duas empresas, adaptando o espaço físico. Esta adaptação levou a microcervejaria A perder a Instalação de lavagem de mãos na área de produção para a instalação de pasteurizador, como discutido anteriormente requisitos de higiene devem ser atendidos e constantemente intensificados.

O registro das microcervejarias no MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, garante às microcervejarias a licença para fabricar e comercializar os produtos registrados, porém não garante o cumprimento dos requisitos de Boas Práticas. O conhecimento em relação aos requisitos legais é aplicado continuamente em todas as etapas da produção, os empresários precisam garantir este aperfeiçoamento constante.

Em relação à pesquisa microbiológica e aos percentuais de adequação dos requisitos legais nas três empresas, percebe-se que a microcervejaria A, que obteve o menor percentual de adequação em relação aos requisitos legais, foi a que não apresentou crescimento bacteriano, enquanto as microcervejarias B e C apresentaram. Uma hipótese para a ausência deste desenvolvimento é a manutenção constante dos equipamentos sanitizados e não somente antes do uso. Com relação ao crescimento de bactérias nas amostras das microcervejarias B e C, é notado que mesmo sendo a cerveja um meio de cultura hostil para as bactérias (Hosseini et al., 2010; Bergsveinson et al., 2012; Kern et al., 2014; Schurr et al.,

2015), algumas conseguem se desenvolver demonstrando a necessidade de manter os requisitos de boas práticas de fabricação, evitando perdas de produto e, conseqüentemente, prejuízos financeiros à empresa. As microcervejarias B e C que sanitizam seus equipamentos antes do uso, também não apresentaram crescimento bacteriano na terceira coleta, mostrando que nestes casos a sanitização foi eficiente. A possibilidade de crescimento bacteriano em cerveja é reforçada em um estudo que isolou bactérias do gênero *Lactobacillus*, em cerveja comercial (Todorov; Dicks, 2004), mostrando novamente que mesmo em um produto não atrativo aos micro-organismos pode haver crescimento.

Em todo o mundo, a higiene é um elemento básico de segurança para alimentos e bebidas, pois as práticas de higiene eficientes são necessárias em todas as etapas do processo. O caso analisado das três microcervejarias mostra que a eficiência da limpeza e sanitização dos equipamentos e utensílios utilizados e a sanitização realizada antes do uso representa uma forma prática e segura no processo de elaboração da cerveja, não sendo necessária a manutenção contínua de sanitizante nos equipamentos, economizando na quantidade de produto utilizada e tempo em relação à mão de obra.

Porém, à adequação de outros requisitos citados acima devem ser adequados e implantados nas microcervejarias avaliadas.

7 CONCLUSÃO

Este trabalho objetivou identificar o desenvolvimento microbiológico nas etapas de produção da cerveja após fervura, bem como avaliar as empresas analisadas em relação aos requisitos legais de Boas Práticas de Fabricação referente à Instrução Normativa nº 05, de 31 de Março de 2000, concluindo que:

- a) As etapas de produção após a fervura do mosto cervejeiro são consideradas críticas, pelo risco de contaminar o produto nas demais etapas, justificando escolha dos pontos avaliados;
- b) Mesmo a cerveja não sendo um ambiente favorável ao desenvolvimento de micro-organismos, a pesquisa mostrou que pode ocorrer o desenvolvimento de bactérias nas microcervejarias, em conformidade com estudos citados;
- c) Os percentuais encontrados em relação aos requisitos de Boas Práticas nas três microcervejarias foi satisfatório, porém a necessidade de aperfeiçoamento contínuo, implantação e implementação de programa de Boas Práticas é necessário ser aplicado nas empresas avaliadas, com foco na qualidade do produto final.

Novos estudos podem ser realizados na área de pesquisa microbiológica, como:

- a) Quantificar as bactérias que se desenvolveram nos equipamentos;
- b) Realizar coletas dos equipamentos em diferentes momentos da produção de cerveja para avaliar se ocorre o desenvolvimento bacteriano durante o processo;
- c) Avaliar o crescimento bacteriano por tipo de cerveja para identificar se ocorre ou não o crescimento bacteriano em diferentes cervejas.

REFERÊNCIAS

- ARNOLD, John P. **Origin and history of beer and brewing**. Reprint edition 2005 from an 1911 first edition Alumni Ass'n of the Wahl-Henius Institute of Fermentology. Cleveland: BeerBooks, 2005.
- BAERT JJ, DE CLIPPELEER J, HUGHES PS, DE COOMAN L, AERTS G. **SOURCE. On the origin of free and bound staling aldehydes in beer**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012.
- BAMFORTH, Charles. **Beer / Tap into the art and Science of brewing**. 2°ed. New York: Oxford University Press, 2003.
- BERGSVEINSON J, PITTET V, ZIOLA B. **RT-qPCR analysis of putative beer-spoilage geneexpression during growth of Lactobacillus brevis BSO 464 and Pediococcus claussenii ATCC BAA-344 (T)in beer**. Applied microbiology and biotechnology, 2012,
- BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento: MAPA. Instrução Normativa N° 05 , de 31 de Março de 2000. Estabelece os requisitos gerais (essenciais) de higiene e de boas práticas de elaboração para bebidas e vinagres, inclusive vinhos e derivados da uva e do vinho, elaborados/industrializados para o consumo humano.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento: MAPA. Instrução Normativa N° 54, de 5 de Novembro de 2001. Fixa os padrões de identidade e qualidade mínimos que deverão cumprir os produtos de cervejaria.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento: MAPA. Decreto n° 2314, de 4 de Setembro de 1997. Regulamenta a Lei n° 8918, de 14 de Julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária, de 30 de Julho de 1997. Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para indústria de alimentos.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução RDC n° 275, de 21 de outubro de 2002. Dispõe sobre o regulamento técnico de procedimentos operacionais padronizados aplicados aos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos e a lista de verificação das boas práticas de fabricação em estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Portaria n° 2914, de 12 de Dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para o consumo humano e seu padrão de potabilidade.

BRASIL. Presidência da República Casa Civil. Lei N° 8.918, de 14 de Julho de 1994. Estabelecida, em todo o território nacional, a obrigatoriedade do registro, da padronização, da classificação, da inspeção e da fiscalização da produção e do comércio de bebidas.

CASARIN, L.S. **Avaliação de interações físico-químicas envolvidas na adesão de patógenos alimentares em superfícies metálicas de equipamentos utilizados na produção de alimentos.** <http://hdl.handle.net/10183/109912>, 2014.

CERVESIA. **Dados Estatísticos.** Disponível em: <http://www.cervesia.com.br/dados-estatisticos/578-cerveja-um-mercado-potencial.html>. Acesso em: Outubro de 2013.

COLEHOUR, A. M; MEADOW, J. F.; SUGIYAMA, L.S. **Local domestication of lactic acid bacteria via cassava beer fermentation.** Smidt H, ed. *PeerJ*, 2014.

CONSONNI, R; CAGLIANI, LR. **Nuclear magnetic resonance and chemometrics to assess geographical origin and quality of traditional food products.** *Advances in Food and Nutrition Research*, 2010.

CUSATO, S.; GAMEIRO, A.H.; CORASSIN, C.H.; SANTA`ANA, ANDERSON; CRUZ, A.; FARIAS, J.A.; OLIVEIRA, C.A. **Food Safety Systems in a Small Dairy Factory: Implementation, Major Challenges, and Assessment of Systems' Performances.** *Foodborne Pathogens and Disease*, volume 10, número 1, 2013.

DOBSON, C.M.; DENEER, H.; LEE, S.; HEMMINGSEN, S.; GLAZE, S; ZIOLA, B. **Phylogenetic analysis of the genus *Pediococcus*, including *Pediococcus clausenii* sp. nov., a novel lactic acid bacterium isolated from beer.** *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2003.

DOUILLARD, F, P.; VOS, W, M. **Functional genomics of lactic acid bacteria: from food to health.** *International Symposium on Lactic Acid Bacteria Egmond and Zee, the Netherlands*, 2014.

DRAGONE, G.; MUSSATO, S.I; NOGUEIRA, A.D.; SILVA, J.B.A. **Produção de cerveja: Microrganismos Deteriorantes e Métodos de Detecção.** *Brazilian Journal of Food Technology*. v. 10, 2007.

FERREIRA, R; VASCONCELOS, M.C; JUDICE, V; NEVES, J.T. **Inovação na fabricação de cervejas especiais na região de Belo Horizonte.** *Perspectivas em Ciência da Informação*, v.16, 2011.

FIGUEIREDO, H.M; ANDRADE, N.J.; OZELA, E.F.; MORALES, G.P. **Influência da velocidade de circulação do leite na adesão de *Pseudomonas aeruginosa* sobre aço inoxidável.** *Food Science and Technology*, volume 29. n° 3 Campinas, 2009.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da Segurança de Alimentos.** Artmed Editora Ltda, 2ª Edição, 2013.

SONCINI-JÚNIOR, GIANCARLO; FRANCHETTI, SANDRA MARA MARTINS; MARCONATO, JOSÉ CARLOS. **Architecture And Relevance Of Several Strongly**

Adhered Biofilms Over A Polyester Imide (Pei) Surface. Brazilian Journal of Microbiology. 105-107, 2003.

GEBEROSO, W.C.; SCHADEWEG, V.; OREB, M.; BOLES, E. **Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for production of butanol isomers.** Current Opinion in Biotechnology, 2014.

HAAKENSEN, M; VICKERS, D.M; ZIOLA, B. **Susceptibility of *Pediococcus* isolates to antimicrobial compounds in relation to hop-resistance and beer-spoilage.** BMC Microbiology, 2009.

HIRALAL, L.; OLANIRA, A. **Aroma-active ester profile of ale beer produced under different fermentation and nutritional conditions.** Journal of Bioscience and Bioengineering, vol. 117, January, 2014.

HOSSEINI, SM; AZAR-DARYANY MK; MASSUDI, R; ELIKAEI, A. **Pulsed UV laser light on *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* suspended in non-alcoholic beer.** Iranian Journal of Microbiology, 2010.

HUGHES, PS; BAXTER, ED. **Beer: quality, safety and nutritional aspects.** Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2001.

INOUE, T; NAGATOMI, Y; UYAMA, A; MOCHIZUKI, N. **Fate of Mycotoxins During Beer Brewing and Fermentation.** Bioscience biotechnology biochemistry, 2013.

JAY, JAMES. **Microbiologia de Alimentos.** 6 ed. Editora: Artmed, 2005.

JUSTÉ, A; MALFLIET, S; WAUD, M; CRAUWELS, S; DE COOMAN, L; AERTS, G; MARSH, G.L; RUYTERS, S; WILLEMS, K; BUSSCHAERT, P; LIEVENS, B. **Bacterial community dynamics during industrial malting, with an emphasis on lactic acid bacteria.** Food Microbiology, 39-46, 2014.

KERN, C.C; VOGEL, R.F; BEHR, J. **Differentiation of *Lactobacillus brevis* strains using Matrix-Assisted-Laser-Desorption-Ionization-Time-of-Flight Mass Spectrometry with respect to their beer spoilage potential.** Food Microbiology, 2014.

KEUKELEIRE, K.K. **Fundamentals Of Beer And Hop Chemistry.** Química Nova, Vol.23, 2000.

LISBOA, M.P; BONATTO, D; HENRIQUES, J.A; BRANDELLI, A. **Characterization of a bacteriocin-like substance produced by *Bacillus amyloliquefaciens* isolated from the Brazilian Atlantic forest.** International Microbiology, 2006.

MADIGAN, M; MARTINKO, J.M; DUNLAP, P; CLARK, D. **Microbiologia de Brock.** Ed. Artmed, 12^oed, 2012.

MAGNÚSSON, S.H; GUNNLAUGSDÓTTIR, H; LOVEREN, H. **State of the art in benefit–risk analysis: Food microbiology.** Food and Chemical Toxicology 50, 2012.

MIZUTANI, K.; NAGATOMI, Y.; MOCHIZUKI, N. **Metabolism of Zearalenone in the Course of Beer Fermentation.** Journal Toxins, 2011.

MORADO, R. **Larousse da Cerveja.** Editora Larousse do Brasil, 2 ed., 2009.

MRÍZOVÁ, K.; HOLASKOVÁ, E.; OZ, MT.; JISKROVÁ, E.; FRÉBORT, I.; GALUSKA, P. **Transgenic Barley: A Prospective Tool For Biotechnology And Agriculture.** Biotechnology Advances, 2014.

MUSSATO, S. **Brewer's spent grain: a valuable feedstock for industrial applications.** Journal fo the Science of Food and Agriculture, 1264-1275; 2014.

OLESIUK, A.K.; ZABOROWSKI, M.; PROKARYN, P.; CIOSEK, P. **Monitoring of beer fermentation based on hybrid electronic tongue.** International Symposium on Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 2012.

PITTET V, PHISTER TG, ZIOLA B. **Transcriptome Sequence and Plasmid Copy Number Analysis of the Brewery Isolate *Pediococcus clausenii* ATCC BAA-344T during Growth in Beer.** Plos One, 2013.

RHEE, S.J.; LEE, J.E.; LEE, C.H. **Importance of lactic acid bacteria in Asian fermented foods.** Microbiology Cell Factory, 2011.

REINOLD, M.R. **O mercado cervejeiro brasileiro atual Potencial Crescimento.** Revista Indústria de Bebidas, Ano 10, nº 57. 2011.

ROY, A. FRASCARIA, N.; MACKAY, J.; BOUSQUET, J. **Segregating random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) in *Betula alleghaniensis*.** Theoretical and Applied Genetics, 85: 173-180. 1992.

SAKAMOTOA, K, KONINGS, W. **Beer spoilage bacteria and hop resistance.** International Journal of Food Microbiology, 2003.

SCHURR B.C; HAHNE H; KUSTER B; BEHR J; VOGEL R.F. **Molecular mechanisms behind the antimicrobial activity of hop iso- α -acids in *Lactobacillus brevis*.** International Journal of Food Microbiology, 2015.

SCHURR B.C; BEHR J; VOGEL R.F. **Detection of acid and hop shock induced responses in beer spoiling *Lactobacillus brevis* by MALDI-TOF MS.** International Journal of Food Microbiology, 2015B.

SICARD D; LEGRAS JL. **Bread, beer and wine: yeast domestication in the *Saccharomyces sensu stricto* complex.** Comptes Rendus Biologies, 2011.

SILVA, P. H.; FARIA, F. C. **Avaliação Da Intensidade De Amargor E Do Seu Princípio Ativo Em Cervejas De Diferentes Características E Marcas Comerciais.** Ciência e Tecnologia de Alimentos [online]. vol.28, n.4, 2008.

SINDICERV. **Mercado da cerveja.** Disponível <
<http://www.sindicerv.com.br/mercado.php>>. Acesso em: Outubro de 2013.

SONCINI, G.J; FRANCHETTI, S.M.M; MARCONATO, J.C. **Architecture And Relevance Of Several Strongly Adhered Biofilms Over A Polyester Imide (Pei) Surface.** Brazilian Journal of Microbiology, 2003.

TIMKE, M; WANG-LIEU, N.Q; ALTENDORF, K; LIPSKI, A. **Community Structure and Diversity of Biofilms from a Beer Bottling Plant as Revealed Using 16S rRNA Gene Clone Libraries.** Applied And Environmental Microbiology, 2005.

TODOROV, SD; DICKS, LM. **Screening of lactic-acid bacteria from South African barley beer for the production of bacteriocin-like compounds.** Folia Microbiológica, 2004.

TONDO, E.C.; BARTZ, S. **Microbiologia e Sistemas de Gestão da Segurança de Alimentos.** Editora Sulina, 2011.

WENDLAND, J. **Lager yeast comes of age.** Eukaryot Cell, 2014.

ANEXO A – FORMULÁRIO DE REQUISITOS DE BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO

Requisitos de Boas Práticas de Fabricação com base na Instrução Normativa nº 05, de 31 de Março de 2000.

Estabelecimento: _____.

Localização: _____.

Volume de produção: _____.

Número de funcionários: _____.

Data do início das atividades: _____.

Total de área construída: _____.

Requisito Avaliado
Instalações:
Localização
Via de trânsito adequada
Acessos fechados ou protegidos contra insetos, roedores, pragas e contaminantes ambientais
Cruzamento entre as etapas de recebimento, produção e armazenamento
Piso impermeável, lavável e conservação adequada
Angulo do piso impede o acúmulo de água
Parede impermeável, lavável, cor clara e conservação adequada
Teto e forro impermeável, lavável, cor clara e conservação adequada
Janelas e Portas - Material liso
Instalações Elétricas:
Embutidas
Protegidas contra rompimentos
Ventilação:
Sistema de exaustão
Vestiário e Sanitário:
Sanitário e vestiário - separados da área de elaboração
Higiene Pessoal:
Uniforme
Sapato protegido
Cabelos cobertos
Instalações para lavagem de mãos na área de elaboração

Abastecimento de Água:
Proveniente de abastecimento público
Possui reservatório
Frequência de limpeza do reservatório definida
Presença de elementos filtrantes
Análise da potabilidade de água
Água residual - sistema de escoamento
Equipamentos e utensílios:
Não transmitam substâncias tóxicas, odores e sabores
Limpeza e desinfecção:
Produtos autorizados nos órgãos competentes
Armazenamento do material de limpeza separado da área de manipulação
Possui frequência de limpeza e desinfecção definida e descrita
Matéria-Prima:
Inspeção na recepção
Armazenamento em estrados e prateleiras
Cuidado após aberto no armazenamento
Elaboração:
Prevenção da contaminação cruzada
Embalagem:
Armazenamento Garrafas
Armazenamento Tampas
Produto acabado:
Local de armazenamento
Transporte
Análise Laboratorial:
Sistema de combate às pragas:
Monitoramento
Aplicação de produtos químicos
Aplicação de produtos químicos realizada por equipe especializada
Subprodutos:
Armazenamento fora da área da manipulação
Destino final
Resíduos:
Coletores fechados
Armazenamento fora da área de manipulação