

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**PREVALÊNCIA DE *ZYMOMONAS MOBILIS* EM AMBIENTE DE INDÚSTRIAS
CERVEJEIRAS NO BRASIL**

Ana Carolina Julio Langone

Porto Alegre

2012/2

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**PREVALÊNCIA DE *ZYMOMONAS MOBILIS* EM AMBIENTE DE INDÚSTRIAS
CERVEJEIRAS NO BRASIL**

Ana Carolina Julio Langone

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para obtenção do título de Engenheira de Alimentos.

Orientador: Eduardo César Tondo

Porto Alegre

2012/2

**PREVALÊNCIA DE *ZYMOMONAS MOBILIS* EM AMBIENTE DE INDÚSTRIAS
CERVEJEIRAS NO BRASIL**

Ana Carolina Julio Langone

Aprovada em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA:

Eduardo César Tondo
(Orientador)
Doutor em Microbiologia de Alimentos
ICTA – UFRGS

Cheila Minéia Daniel de Paula
Engenheira de Alimentos – UFRGS
Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos – UFRGS

Letícia Sopeña Casarin
Química de Alimentos - UFPEL
Mestre em Microbiologia Agrícola e do Meio Ambiente – UFRGS

*“Valeu a pena? Tudo vale a pena
Se a alma não é pequena.
Quem quer passar além do Bojador
Tem que passar além da dor.”*

Fernando Pessoa

RESUMO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de cerveja. Esta grande produção gera impostos, empregos e lucros. A produção pode ser afetada pela contaminação de micro-organismos deteriorantes, os quais modificam as características organolépticas do produto, causando sérias perdas econômicas. A bactéria *Zymomonas mobilis* é um contaminante da bebida e produz compostos indesejáveis. Este trabalho teve como objetivo avaliar a prevalência da *Z. mobilis* em ar ambiente de indústrias cervejeiras no Brasil. Para tanto, foram expostas placas de Petry contendo meio de cultura Raka Ray, durante 30 minutos, em ar ambiente das áreas produtivas: brasagem, filtração, adegas de pressão e envase em diferentes cervejarias das cinco regiões brasileiras. Após a exposição, as amostras foram incubadas a 27° C, em anaerobiose, por sete dias. A partir dos resultados, observou-se que a região que apresentou maior prevalência foi a região Centro-Oeste, seguida das regiões Sudeste e Nordeste. As regiões Norte e Sul não apresentaram *Z. mobilis* no período de tempo em que o trabalho foi realizado. O ar ambiente fabril mais contaminado foi da área de envase, a qual é a mais crítica, já que não existem métodos de controle após a finalização do produto.

Palavras-chave: *Zymomonas mobilis*, cerveja, ar ambiente.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Brasil dividido em cinco regiões.....	11
Figura 2. Fluxograma de produção de cerveja tipo pilsen.....	14

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Prevalência de <i>Z. mobilis</i> em ar ambiente de cervejarias brasileiras.....	18
Tabela 2. Prevalência de <i>Z. mobilis</i> por área e região.....	18

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2. DESENVOLVIMENTO BIBLIOGRÁFICO	10
2.1 O BRASIL E A CERVEJA.....	10
2.1.1 <i>Divisão geográfica do Brasil</i>	<i>11</i>
2.1.2 <i>Processo produtivo da cerveja tipo pilsen</i>	<i>11</i>
2.1.2.1 Brassagem	12
2.1.2.2 1ª Filtração	12
2.1.2.3 Fermentação	12
2.1.2.4 Maturação.....	12
2.1.2.5 2ª Filtração	13
2.1.2.6 Adegas de pressão	13
2.1.2.7 Envase	13
2.1.2.8 Pasteurização.....	13
2.2 CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA CERVEJA	14
2.3 ZYMOMONAS MOBILIS	15
3 MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 COLETA.....	16
3.2 IDENTIFICAÇÃO.....	17
4 RESULTADOS.....	17
5 DISCUSSÃO	19
6 CONCLUSÃO	21
7 PERSPECTIVAS DO TRABALHO	22
8 REFERÊNCIAS.....	23

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o Brasil é o terceiro maior produtor de cerveja no mundo (SINDICERV, 2011), uma vez que produziu 12,8 bilhões de litros em 2010 e 13,3 bilhões de litros em 2011 (SICOBEB, 2012).

O mercado brasileiro é dominado por empresas de grande porte que lucram por grandes volumes de produção, as quais investem em *marketing* caro através de comerciais vinculados a grandes redes de televisão aberta, eventos esportivos e musicais. Tais volumes podem ficar ameaçados por fatores externos que podem afetar a qualidade do produto final e causar um rejeito por parte do consumidor. Entre os fatores externos está a contaminação, desde a matéria-prima até o produto envasado, por micro-organismos indesejáveis que podem alterar as características organolépticas do produto, impedindo a venda, gerando reclamações e perdas de consumidores, ou seja, prejuízos significativos.

Entre as bactérias mais frequentemente associadas à deterioração da cerveja estão os gêneros *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Micrococcus*, *Pectinatus*, *Megaspharea*, *Selenomonas*, *Zymophilus* e *Zymomonas* (JESPERSEN e JAKOBSEN, 1996). Recentemente, esse último gênero tem sido isolado com maior frequência em indústrias cervejeiras, podendo provocar alterações na qualidade e consideráveis perdas econômicas.

A espécie *Zymomonas mobilis* causa turvação, produz H₂S e acetaldeído na cerveja (Jespersen and Jakobsen, 1996). Essa espécie é particularmente importante para cervejas que possuem adição de açúcar (VAN VUUREN, 1996). Sua fonte de contaminação não está completamente conhecida, porém ela tem sido associada a contaminações ambientais, provenientes de solos e ar. Embora esse micro-organismo seja facilmente inativado pela pasteurização da cerveja, ele tem sido considerado como um indicador da contaminação ambiental durante o processo, tornando-o de grande relevância para a indústria cervejeira no Brasil.

Baseado nestas informações, o presente trabalho objetivou avaliar a prevalência de *Zymomonas mobilis* em ambiente de indústrias cervejeiras do Brasil.

2. DESENVOLVIMENTO BIBLIOGRÁFICO

2.1 O BRASIL E A CERVEJA

Segundo a pesquisa de orçamentos familiares (POF) do IBGE de 2008-2009, o brasileiro consome mais cerveja que arroz e feijão. A pesquisa mostrou que o consumo *per capita* diário da bebida alcoólica é de 3,3 g para adolescentes; 41,3 g para adultos e 19,8 g para idosos.

A empresa alemã Bath-Haas Group apontou em 2012 que o Brasil está entre os vinte maiores consumidores da bebida no mundo. No levantamento feito com 40 países, o Brasil ocupa a 17ª posição, um dos únicos da América Latina entre esses vinte e indicou que o consumo *per capita* do brasileiro é de 62 litros por ano.

Uma única empresa domina o mercado no país atendendo quase 70% do público consumidor com um portfólio variado, o qual contém a quarta marca de cerveja mais consumida do mundo. Segundo dados da própria empresa, obteve uma receita líquida de mais de 14 milhões de reais no Brasil em 2010.

Carvalho *et al.* (2008), realizou uma pesquisa em 4 grandes redes de supermercados brasileiros e a pesquisa revelou que 78,3 % dos entrevistados preferem cervejas tipo pilsen, também conhecidas como *lager*. Informação que vai ao encontro com o tipo de cerveja mais produzida no Brasil.

Um levantamento realizado pela Secretaria Nacional Antidrogas (SENAD), em 2007, apontou que 61% do volume de bebida alcoólica consumido pelos brasileiros é cerveja, em segundo lugar apareceu o vinho com 25% do consumo. Também, constatou que a região Sul do Brasil consome a bebida com uma maior frequência, enquanto as demais regiões bebem em maior quantidade nas ocasiões de consumo.

Segundo a pesquisa realizada em 2012 pelo Instituto Brasileiro de Opinião e Estatística (IBOPE), a região Sul é a região com maior consumo *per capita* de bebidas fermentadas, seguida das regiões Centro-Oeste, Sudeste, Norte e Nordeste.

O Brasil tem uma área de 8.547.403 km² de extensão, fazendo fronteira com outros países ao oeste, norte e sul e com o Oceano Atlântico na costa Leste. Toda esta extensão acarreta em variações climáticas muito grandes, comparando as cinco diferentes regiões. Sabe-se que as bactérias precisam de condições propícias ao

2.1.2.1 Brassagem

Os grãos de malte, e, em alguns casos, cereais não maltados, passam por trituração. A moagem tem a função de expor a parte interna dos grãos para concluir a ação enzimática. Já moídos, seguem para um tanque com água quente. Essa mistura é cozida. O processo, feito com diversas temperaturas, ativa as enzimas dos cereais e transforma o amido em açúcar fermentável. O resultado é um líquido turvo, viscoso e adocicado, chamado de mosto.

2.1.2.2 1ª Filtração

O mosto primário é filtrado e refiltrado, para eliminar o bagaço. Já filtrado, o conteúdo é bombeado para uma caldeira. A fervura intensa não só esteriliza o mosto como ajuda a definir a cor e sabor da cerveja. Nessa etapa mais um ingrediente é adicionado: o lúpulo, responsável pelo sabor amargo, aromas florais e herbais e compostos antimicrobianos.

2.1.2.3 Fermentação

O mosto recebe as leveduras e é acondicionado em grandes tanques. Nessa fase, o fermento transforma o açúcar do mosto, como a maltose e a glicose, em álcool e gás carbônico. É produzida pequenas quantidades de substâncias que, juntas, conferem sabor e aroma à bebida. O controle da temperatura varia de acordo com os tipos de cerveja. Por fim, é resfriada a 0° C e sedimentos resultantes são separados por decantação.

2.1.2.4 Maturação

Nessa fase acontecem pequenas e sutis transformações, que ajudam a formar o sabor da cerveja. Substâncias indesejadas, oriundas da fermentação, são eliminadas, e o açúcar residual é consumido pelas células de fermento

remanescentes, em um fenômeno conhecido por fermentação secundária. Ao término desse estágio, a cerveja apresenta aroma, sabor e corpo definidos.

2.1.2.5 2ª Filtração

É a etapa de acabamento da cerveja. Depois de maturada, a cerveja passa por filtração para eliminar partículas restantes de leveduras em suspensão. O processo não altera a composição ou sabor da bebida, mas é fundamental para garantir sua apresentação: translúcida e brilhante.

2.1.2.6 Adegas de pressão

Após filtrada, a cerveja está praticamente concluída. Nesta etapa ela fica armazenada em tanques com temperaturas baixas, o tempo depende da programação das linhas de envase da fábrica.

2.1.2.7 Envase

Uma fase importante para garantir a qualidade e a estabilidade da cerveja. A bebida é acondicionada em latas de alumínio ou em garrafas de vidro.

2.1.2.8 Pasteurização

O produto envasado é submetido à pasteurização. Nesse tratamento térmico a cerveja é aquecida até 60° C e resfriada até chegar à temperatura ambiente. É este tratamento térmico que garante maior durabilidade ao produto: a vida de prateleira chega a seis meses depois da fabricação.

Figura 2. Fluxograma de produção de cerveja tipo pilsen



2.2 CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA CERVEJA

Analisando o processo cervejeiro, existem vários pontos suscetíveis a contaminações microbiológicas, desde contaminações ambientais e de matérias-primas e ingredientes, até a contaminação por contato humano.

Dentre as etapas mais propensas a causar contaminação microbiológica, estão as etapas de fabricação de mosto (brassagem) por introduzir várias matérias-primas como água, malte, cereais não maltados e lúpulo, fermentação pela adição de leveduras que podem conter contaminantes, filtração, já que nesta etapa a terra de filtração é utilizada para tanques diferentes, envase, pelo fato do contato com embalagens que podem não estar sanitizadas corretamente e após o envase, o transporte não ser realizado em condições assépticas até o arrolhamento.

Os micro-organismos podem aparecer em qualquer etapa da produção. Algumas das bactérias que causam as deteriorações mais severas, perceptíveis ao consumidor (produção de H₂S e diacetil) são as anaeróbias obrigatórias ou anaeróbias facultativas (*Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Megasphaera*, *Pectinatus* e *Lactococcus*, *Zymomonas*), entre outras. Por essa razão, as etapas mais críticas são

aquelas em que há maior presença de CO₂, como a fermentação, maturação, adegas de pressão e envase, já que a concentração de O₂ diminui e estes micro-organismos conseguem se desenvolver.

No ano de 1951 foi descoberto por Gibbs e DeMoss que a fermentação anaeróbia da glicose segue o mecanismo Entner Doudoroff, mecanismo que ocorre principalmente em micro-organismos aeróbios (Swings e De Ley, 1977). Por ser anaeróbia facultativa e possuir este tipo de mecanismo, a *Z. mobilis* consegue desenvolver-se em atmosferas muito variáveis. O substrato dessa fermentação, glicose, está presente em todas as etapas da produção cervejeira. Além disso, ela é um contaminante proveniente do ambiente externo, e pode ser um indicativo de falta de higiene ou, ainda, falha em soldas e fissuras em tubulações e equipamentos. Por estas razões, este micro-organismo pode ser um bom indicador de contaminações microbiológicas.

2.3 ZYMOMONAS MOBILIS

Zymomonas mobilis fermenta glicose e frutose, algumas cepas, sacarose, gerando quantidades praticamente equimolares de etanol e CO₂ (Ernandes e Garcia-Cruz, 2009). É conhecido como um dos melhores produtores de etanol encontrados na natureza. Apresenta um alto rendimento na produção de etanol (97% do valor teórico) e uma maior produtividade quando comparado a leveduras comumente utilizadas para produção de biodiesel (PANESAR, et al., 2006).

A espécie *Zymomonas mobilis* também é conhecida como um micro-organismo degradador de cervejas, bebidas fermentadas de maçã e pera. É responsável pela turvação e produção de grandes quantidades de acetaldeído e ácido sulfídrico (Jespersen and Jakobsen, 1996).

Zymomonas mobilis é uma bactéria resistente ao lúpulo e capaz de se multiplicar em cervejas com pH acima de 3,4 e concentrações de etanol de até 10%. Cresce em temperatura ideal de 30°C (HOUGH *et al.*, 1982). Uma de suas subespécies *mobilis* é capaz de crescer em presença de sal e a 36°C (Swing and DeLey, 1977 *apud* Conton *et al.*, 2003).

Não é conhecida por ser patogênica para humanos, animais ou plantas. Lindner em 1931 recomendou o uso de *Zymomonas* na nutrição humana como um tipo de iogurte. Foram relatados por Falcão de Moraes *et. al.*, 1993 efeitos contra

bactérias e fungos in vitro, e à utilização terapêutica de *Zymomonas*, nos casos de infecções crônicas entéricas e ginecológicas (GARRITY, 2005).

Esta bactéria é Gram-negativa, não esporulada, anaeróbia facultativa e catalase positiva. Morfologicamente, apresenta forma de bastonete curto e grosso medindo de 2,0 a 6,0 μm de comprimento e 1,0 a 1,4 μm de largura (MORAIS, 1983). A maioria das cepas são imóveis, mas 30 % apresenta motilidade com a presença de 1 a 4 flagelos (SWINGS e DeLey, 1977). São encontradas geralmente em pares, mas podem aparecer isoladamente (TOMA et al., 2003). Apresenta resultado negativo quando submetida ao teste de oxidase (GARRITY, 2005).

Segundo Sakamoto e Konings em 2003, existem vários meios para detecção de bactérias deteriorantes de cerveja. Entre estes meios está o Raka-Ray que pode ser usado como ágar distribuído em placas de petry, o qual possui na sua composição: extrato de levedura, triptona, concentrado de fígado, maltose, frutose, glicose, betaína HCL, diamônico hidrogênio citrato, sulfato de magnésio, sulfato de manganês, fosfato de potássio e N-acetil glucosamina. Este meio é recomendado pela Convenção Européia de Cervejarias (*European Brewery Convention*), Sociedade Americana de Químicos Cervejeiros (*American Society of Brewing Chemists*) e Convenção de Cervejarias do Japão (*Brewery Convention of Japão*).

A partir das características de multiplicação e incidência das *Z. mobilis*, estipulou-se a metodologia de coleta, incubação e identificação.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 COLETA

As amostras foram coletadas em 18 indústrias cervejeiras dispostas em diferentes regiões do Brasil. As coletas foram realizadas no período de 28/05 a 17/09/2012, meses de outono e inverno no país (média de 84 amostras/indústria).

Foram expostas ao ar ambiente de diferentes áreas das fábricas, placas descartáveis de 90 mm de diâmetro e 15 mm de altura, contendo meio de cultura Raka-Ray (Oxoid, Basingstoke, Inglaterra) por 30 minutos.

Previamente à coleta de amostras, as superfícies onde as placas foram apoiadas foram limpas com água destilada e detergente Extran 5% e então

enxaguadas com água destilada. Em seguida, foi realizada a assepsia com álcool 70%.

Os pontos de coleta de amostras foram a brassagem, filtração, adegas de pressão e envase.

Após os 30 minutos de exposição, as placas foram fechadas e levadas ao laboratório de Microbiologia, presente na respectiva fábrica onde a amostra foi coletada. No laboratório, foram colocadas em jarras de anaerobiose (Probac, Santa Cecília, Brasil) com gerador de anaerobiose Anaerogen (Oxoid, Basingstoke, Inglaterra). A incubação destas jarras nesta atmosfera foi realizada em estufa bacteriológica com temperatura de $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$, pelo período de sete dias.

3.2 IDENTIFICAÇÃO

Após o período de incubação, foram identificadas as colônias típicas: colônias amareladas irregulares, médias, translúcidas, com bordos contínuos e com pouca aderência ao meio de cultura, foram submetidas aos seguintes testes: microscopia em campo escuro, catalase, oxidase e coloração de Gram, conforme metodologia descrita por Silva *et. al* 2010.

4 RESULTADOS

Foram consideradas como *Zymomonas mobilis* as colônias típicas em ágar Raka Ray e que apresentaram morfologia de bastões curtos e grossos pela microscopia em campo escuro e em campo claro por coloração de Gram e coloração de Gram-negativa. Essas colônias quando submetidas ao teste de motilidade por microscopia e provas bioquímicas foram consideradas positivas quando apresentaram os seguintes resultados: móveis ou não, catalase positiva e oxidase negativa. Ao total foram analisadas e caracterizadas como *Zymomonas mobilis* 219 do total de 1514 amostras.

As fábricas das regiões Sul e Norte não apresentaram *Zymomonas mobilis* no ar ambiente no período analisado. Por outro lado, as regiões Centro-Oeste, Sudeste e Nordeste, apresentaram prevalência de 34%, 17% e 14%, respectivamente, conforme Tabela 1. Houve diferença da amostragem entre as fábricas, regiões e áreas devido a números diferentes de unidades fabris por

regiões, imprevistos causados por paradas de produção e falha de gerenciamento de materiais e programação de coletas.

Tabela 1. Prevalência de *Z. mobilis* em ar ambiente de cervejarias brasileiras.

Região	n° de fábricas analisadas	n° de amostras (amostras positivas*)	Prevalência (%)
Norte	1	84 (0)	0
Nordeste	5	176 (25)	14
Centro-Oeste	4	368 (124)	34
Sudeste	6	694 (120)	17
Sul	2	192 (0)	0

*≥ 1 UFC por placa

Tabela 2. Prevalência de *Z. mobilis* por área e região

Região	n° de fábricas	Área	n° de amostras (amostras positivas*)	Prevalência (%)
Nordeste	5	Brassagem	38 (1)	3
		Filtração	35 (3)	9
		Adegas	65 (6)	9
		Envase	38 (5)	13
Centro-Oeste	4	Brassagem	37 (10)	27
		Filtração	84 (31)	37
		Adegas	139 (26)	19
		Envase	108 (57)	53
Sudeste	6	Brassagem	62 (9)	15
		Filtração	123 (8)	7
		Adegas	210 (17)	8
		Envase	299 (46)	15

*≥ 1 UFC por placa

Conforme demonstrado na Tabela 2, a região Centro-Oeste apresentou a maior prevalência em todas as diferentes etapas do processo produtivo. A região

Nordeste foi aquela que apresentou uma menor prevalência da bactéria. De forma geral, a área de envase foi aquela que demonstrou maior prevalência do micro-organismo, enquanto que as demais áreas demonstraram percentagens de contaminação diversas.

5 DISCUSSÃO

A *Z. mobilis* foi encontrada pela primeira vez em indústria cervejeira por Shimwell, em 1937, na área externa da fábrica e escovas de máquinas lavadoras de embalagens. Na mesma indústria, as mesmas cepas foram encontradas na cerveja (Swings e De Ley, 1977).

Essa bactéria tem sido relacionada a contaminações de origem ambiental e de matéria-primas, sendo, portanto, as mesmas de outros micro-organismos deteriorantes de cerveja (VAUGHAN *et al.*, 2005). Segundo Jay (2005) as características de um bom indicador microbiológico são: estar presente e ser detectável em todos os alimentos cuja sua presença possa ser avaliada, concentração e crescimento devem ter uma correlação inversamente proporcional à qualidade do produto, ser facilmente detectável, quantificado e claramente distinguido de outros micro-organismos, ser quantificado em um curto período de tempo, de preferência em um dia, crescimento não deve ser afetado por outros micro-organismos da flora do alimento. Ainda, segundo Jay (2005), as bactérias ácido lácticas são altamente relacionadas com a qualidade da cerveja. Estas são detectadas nas mesmas condições que a *Z. mobilis*, em sete dias. A *Z. mobilis* somente diverge de um micro-organismo indicador ideal, pelo tempo de crescimento. Swings e De Ley (1977) sugeriram um meio líquido para o desenvolvimento da bactéria em que resultados poderiam ser observados a partir de dois dias, sendo necessário realizar teste de coloração de Gram para confirmação.

Seguindo a metodologia utilizada no trabalho, os micro-organismos Gram positivos degradadores de cerveja seriam melhores indicadores de contaminações ambientais, já que a fonte de contaminação pode ser a mesma e estes resistem a temperaturas mais altas por um maior intervalo de tempo que a *Z. mobilis*.

A presença da *Z. mobilis* no ar ambiente de uma indústria cervejeira pode significar falha na limpeza do ambiente fabril, podendo contaminar a superfície externa de equipamentos e utensílios. A capacidade de formar biofilmes da *Z.*

Z. mobilis (Li *et. al*, 2006) pode contribuir com a contaminação interna de equipamentos e, conseqüentemente, a contaminação da cerveja. Falhas na vedação e soldas de equipamentos também podem acarretar a contaminação da cerveja em processamento, e, uma vez contaminados, os equipamentos e tubulações irão requerer higienizações mais eficazes para sua descontaminação, ou ainda, a sua substituição. Além disso, esse micro-organismo tem sido utilizado como indicador da contaminação microbiológica da cerveja devido a sua capacidade de adaptação a esse produto. Cabe ressaltar que a correta pasteurização da cerveja elimina a *Z. mobilis*. Ela é inativada em temperaturas superiores a 60° C, por cinco minutos (Swings e De Ley, 1977). Porém, a deterioração da cerveja por essa bactéria pode ocorrer antes do processamento térmico, o que não pode ser revertido pela ação da pasteurização.

No presente estudo, a maior prevalência da *Z. mobilis* na área de envase das plantas industriais investigadas sugeriu que as mesmas não foram adequadamente higienizadas ou permaneceram sendo contaminadas através de fontes externas. Tais contaminações podem ser explicadas pelo hábito frequente dos funcionários de indústrias cervejeiras de deixar os portões da área industrial abertos. Esse fato tem ocorrido, uma vez que o processamento da cerveja é realizado, na maior parte, dentro de equipamentos, sem contato com o ambiente externo ou manipuladores. Contudo, a contaminação por bactérias como a *Z. mobilis* demonstra a necessidade de um maior controle do ambiente interno das fábricas. Além disso, essa contaminação enfatiza a importância da higiene externa dos equipamentos. Outra fonte externa contaminante pode ser o fato do recebimento do mercado de garrafeiras sujas contendo garrafas retornáveis com restos de cerveja contaminada. Estas são desinfectadas antes da reutilização no mesmo ambiente de envase, portanto, podem contaminar o ar ambiente antes do processo de desinfecção.

Tal contaminação pode se tornar crítica caso haja um problema no arrolhamento das garrafas e/ou na recravação das latas, ocasionando a entrada do micro-organismo deteriorante após a pasteurização. Durante o armazenamento e distribuição em temperaturas elevadas, a bactéria pode encontrar condições ideais para sua multiplicação e produção de substâncias indesejáveis fazendo com que o produto chegue ao mercado impróprio para o consumo, causando perda de confiança de consumidores e a diminuição do volume de vendas.

Já na área de produção, a prevalência de *Z. mobilis* não seria tão crítica, já que as temperaturas de fermentação, maturação e armazenamentos nas adegas de pressão ficam entre 8 e 12° C, o que não é favorável para o seu desenvolvimento e produção de substâncias indesejáveis. Porém, a *Z. mobilis* pode estar acompanhada de outros micro-organismos deteriorantes já que tem capacidade de produzir biofilmes e, por isso, sua presença deve ser relevante na avaliação do processo, condições higiênicas de equipamentos e tubulações, qualidade microbiológica de matérias-primas, água e condições de assepsia.

A *Z. mobilis* não foi encontrada no ar ambiente de fábricas das regiões Sul e Norte. Esse resultado pode ser explicado de duas formas 1) estas regiões estavam muito úmidas no período em que ocorreram as coletas e essa umidade dificultou a dispersão de partículas de poeira no ar, evitando a contaminação; 2) em ambientes mais úmidos os fungos seriam melhores competidores e se desenvolveriam melhor no meio de cultura, inibindo a multiplicação da *Z. mobilis*.

As regiões Sudeste, Nordeste e Centro-Oeste apresentaram incidências da bactéria e esta pode ser atribuída, porém não somente, a condições climáticas comuns como tempo seco e temperaturas elevadas. Também pode ser atribuída a diferentes métodos de assepsia e sanificantes, variabilidade da capacitação de funcionários, tipo de solo da região, vizinhança ao redor da fábrica: área urbana ou rural, entre outros.

6 CONCLUSÃO

Como a *Z. mobilis* foi bastante encontrada no ar ambiente, conclui-se que uma de suas origens é ambiental e esta pode ser considerada como um indicador de higiene externa.

Pode-se concluir que a *Z. mobilis* pode estar presente nas principais etapas de produção de cerveja e que a higienização da parte externa dos equipamentos é de extrema importância no controle desta bactéria. Neste trabalho, observou-se que a área mais contaminada das indústrias cervejeiras foi a do envase, o que indica que a higiene desta área deve ser melhorada, pois, uma vez contaminado o produto, não há outra medida de controle.

Conclui-se ainda, a partir deste estudo, que as plantas industriais das regiões Sudeste, Nordeste e Centro-Oeste apresentaram *Z. mobilis*, e que fatores como o clima podem ter influenciado nesse resultado.

7 PERSPECTIVAS DO TRABALHO

A fim de aprofundar a investigação da *Z. mobilis* nas indústrias cervejeiras, seria importante realizar tipificação molecular das cepas isoladas nos ambientes de fábrica, buscando a identificação das prováveis fontes de contaminação. Além disso, a investigação das características das resistências térmicas, ácidas e a sanificantes podem trazer informações relevantes para a prevenção dessa bactéria no setor cervejeiro.

Pode-se também realizar um novo trabalho analisando a incidência em diferentes tipos de solos em diferentes regiões. Regiões com solos não propensos a desenvolvimento de *Z. mobilis* poderiam ser regiões em potencial para construções de novas indústrias cervejeiras, entre outros fatores.

O desenvolvimento de métodos mais rápidos e de mesmo ou menor custo permitiria o uso da *Z. mobilis* como um melhor indicador na indústria cervejeira.

8 REFERÊNCIAS

Bath-Haas Group. Disponível em: <<http://www.infomoney.com.br/minhas-financas/noticia/2514946/Brasileiro-esta-entre-que-mais-bebem-cerveja-mundo-veja-ranking>>. Acesso em 18/11/2012.

CARVALHO, J. et al. Análise do perfil de compra do consumidor de cerveja pilsen branca. **Rio's International Journal**. Rio de Janeiro, v. 2. 2008.

COTON, E; COTON M. Microbiological Origin of “Framboisé” in Frech Ciders. **Journal of Institute of Brewing**, v. 109, n. 4, 2003.

COTON, M. et al. “Framboisé” spoilage in French ciders: *Zymomonas mobilis* implication an characterization. **LWT – Food Science and Technology**. Caen, v. 39, p. 972-979. 2006.

COTON, M.; LAPLACE J. M.; COTON, E. *Zymomonas mobilis* subspecies identification by amplified ribosomal DNA restriction analysis. **Letters in Applied Microbiology**, Caen, France, v. 40, p. 152-157. 2005.

ERNANDES, F. M. P. G.; GARCIA-CRUZ, C.H. *Zymomonas mobilis*: um microrganismo promissor para a fermentação alcoólica. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 361-380, abr./jun. 2009.

GARRITY, G. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Nova Iorque, n. 2 v. 2. Springer Verlag. 2005.

HOUGH, J.S. et al. **Malting and Brewing Science: volume II hopped wort and beer**. London. 2 ed, p. 389-914. 1982.

IBGE. Divisão Regional. 2012. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/geografia/default_div_int.shtm>. Acesso em 16/11/2012.

IBOPE, 2012. Disponível em:
<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/resultado_pesquisa_senad_2007.pdf>.
Acesso em 01/12/2012.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. Las Vegas, n. 6 . Artmed. 2005.

JEPERSEN, L.; JAKOBSEN, M. Specific spoilage organisms in breweries and laboratory media for their detection. **International Journal of Food Microbiology**, v. 33, p. 139-155. 1996.

LI, X. Z. et al. Enhanced Benzaldehyde Tolerance in *Zymomonas mobilis* Biofilms and the Potential of Biofilm Applications in Fine-Chemical Production. **Applied and Environmental Microbiology**. Washington, v. 72, n. 2, p. 1639-1644. Feb., 2006.

MORAIS, F. J. O. Isolamento de *Zymomonas mobilis* em mostos de caldo de cana de fermentações industriais. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 14, p. 6-10, 1983.

PANESAR, P.; MARWAHA S.; KENNEDY J. *Zymomonas mobilis*: an alternative ethanol producer. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 81, n. 4, p. 623-635. 2006

POF. Pesquisa de orçamentos familiares. 2008-2009. Disponível em:
<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1937&id_pagina=1>. Acesso em 17/11/2012.

Produção de cerveja tipo pilsen. Disponível em: <www.ambev.com.br> e <www.kaiser.com.br>. Acesso em 17/11/2012.

SAKAMOTO, K.; KONINGS, W.N. Beer spoilage bacteria and hop resistance. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, v. 89, n. 2-3, p. 105-124, 2003.

SENAD, 2007. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/resultado_pesquisa_senad_2007.pdf>. Acesso em 01/12/2012.

SICUBE. 2012. Disponível em: <<http://www.receita.fazenda.gov.br>>. Acesso em 17/11/2012.

SILVA, N. J. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. São Paulo. Varela. 2010.

SINDICERV. 2011. Disponível em <<http://www.sindicerv.com.br>>. Acesso em 17/11/2012.

SWINGS, J; DE LEY, J. The Biology of *Zymomonas*. **Bacteriological Reviews, American Society for Microbiology**. United States of America, v. 41, n. 1. Mar, 1977.

TOMA, M. M. et al. The effect of mixing on glucose fermentation by *Zymomonas mobilis* continuous culture. **Process Biochemistry**, London, v. 38, p. 1347-1350. 2003.

VAN VUUREN, H.J.J. Gram-negative spoilage bacteria. **Brewing Microbiology**. n. 2. Elsevier: London, p. 163-191. 1996.

VOUGHAN, A.; O'SULLIVAN, T.; VAN SINDEREN, D. Enhancing the microbiological stability of malt and beer – A review. **Journal of the institute of Brewing**. London, v. 111, n.4, p. 355-371. 2005.