

ESTUDO SOBRE FONTES DE CONTAMINAÇÃO DE UMA MICROCERVEJARIA: OTIMIZAÇÃO DE PASTEURIZAÇÃO E PROCEDIMENTOS DE ASSEPSIA

Rodrigo Konzen Seibel
Aluno da Faculdade de Engenharia
Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.
Av. Ipiranga, 6681. Partenon. Porto Alegre/RS. CEP 90619-900.

RESUMO

Um dos grandes problemas da indústria alimentícia é a contaminação do produto através de microrganismos. Por isso, rigorosos cronogramas de limpeza são realizados para diminuir a probabilidade de contaminações. Para minimizar os microrganismos indesejados em produtos como a cerveja, o processo térmico da pasteurização pode ser utilizado. Este artigo analisa as fontes de contaminação, processos de assepsia e de pasteurização aplicados para eliminar contaminação por microrganismos em uma microcervejaria. Apesar do controle da pasteurização ser limitado, observou-se que os resultados obtidos para as unidades de pasteurização foram aceitáveis. A análise dos microrganismos presentes na cerveja foi realizada utilizando Testes de Coloração de Gram, sendo possível identificar contaminação visual maior que o esperado para as amostras não pasteurizadas e para as amostras com o tempo padrão de pasteurização da fábrica. O método Plan-Do-Check-Action (PDCA) possibilitou análise de pontos críticos, indicando de maneira objetiva suas possíveis soluções de falhas nos processos de esterilização e assepsia. A consideração de possíveis fontes de contaminação nas limpezas de rotina da fábrica e correspondente alteração de procedimento levou a outro Teste de Coloração de Gram, desta vez, com menor quantidade de microrganismos. Estas alterações de procedimento reduzem as chances de desperdício de bateladas e mantem a qualidade do produto final.

PALAVRAS-CHAVE: Assepsia. Cerveja. Fontes de contaminação. Pasteurização. Teste de Coloração de Gram.

ABSTRACT

One of the big problems in the food industry is product contamination by microorganisms. Therefore, strict cleaning schedules are conducted in order to minimize the probability of contamination. Once common method used to minimize contaminants in products such as beer is the thermic process of pasteurization. This article investigates the sources of contamination, evaluates the aseptic cleaning procedures and pasteurization methods employed to eliminate contaminants in a microbrewery. It was observed that pasteurization, despite inherent difficulty in controlling the process, had acceptable results for the Unit Pasteurization. The microorganism analysis performed using the Gram Stain Test however, had identified more contamination than expected for the non-pasteurized sample and for the sample treated to the industry standard pasteurization time. The PDCA method was used to clarify these problems and assisted in finding the solutions. Integration of new protocols in the cleaning schedule resulted in the Gram Stain Test detecting less of the microorganisms, thus reducing the chance of a spoiled batch and maintaining a high quality product.

KEY-WORDS: Aseptic. Beer. Contamination sources. Gram staining test. Pasteurization.

1. INTRODUÇÃO

Cerveja tem sido reconhecida como sendo uma bebida com teor de estabilidade microbiológica consideravelmente alto. Pelo fato da bebida conter pouca quantidade de oxigênio e nutrientes, um número limitado de microrganismos consegue se multiplicar. Além disso, a presença de álcool (0,5-10% w/w) e pH relativamente baixo (3,8 – 4,7) ajudam a manter o alto padrão de higiene (SUZUKI et al., 2006).

Apesar das condições desfavoráveis ao crescimento de microrganismos, algumas espécies conseguem se adaptar ao meio e se multiplicar. Estes microrganismos deteriorantes podem alterar a cerveja de algumas maneiras, como aumento da turbidez, acidez e viscosidade, podendo ocasionar mudanças sensoriais, muitas vezes desagradáveis (DRAGONE et al., 2007).

Estes contaminantes da cerveja podem ser originários de vários pontos do processo de fabricação. Além disso, as matérias primas também podem conter microrganismos indesejados (DRAGONE et al., 2007).

O controle da deterioração microbiológica da cerveja é atingido quando as fontes de contaminação são eliminadas. Porém o processo de fabricação de cerveja em si não é totalmente imune às contaminações, sendo que algumas estratégias de combate podem ser utilizadas como: ajuste de pH, redução da atividade de água, higienização regular dos equipamentos, através de procedimentos de assepsia, processo de tratamento térmico da cerveja envasada (pasteurização), bem como armazenamento em baixas temperaturas (STORGARDS, 2000).

O tratamento térmico realizado pela pasteurização assegura a qualidade da cerveja até a sua data prevista de vencimento. O objetivo deste tratamento térmico é eliminar os microrganismos contaminantes a partir de determinada Unidade de Pasteurização (UP), que faz a relação entre o tempo e a temperatura da pasteurização. (REINOLD, 2009)

Este trabalho tem como objetivo melhorar os processos de pasteurização e de assepsia praticados hoje na microcervejaria, através da análise do procedimento de pasteurização da fábrica e também de Teste de Coloração de Gram para identificação visual dos microrganismos presentes.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Produção de Cerveja

Segundo (OLIVEIRA, 2009), a cerveja pode ser definida como uma bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto do malte de cevada e água potável, por ação da levedura cervejeira, com a adição de lúpulo, podendo parte do malte ser substituído por cereais maltados ou não, ou carboidratos de origem vegetal.

A produção de cerveja pode ser dividida em quatro etapas: a primeira etapa é a transformação da cevada em malte. A segunda é a produção do mosto e a terceira é a fermentação e maturação. Já a quarta etapa é o envase e pasteurização (MADRID et al. 1996).

O processo de fabricação de cerveja é representado através do fluxograma da Figura 1.

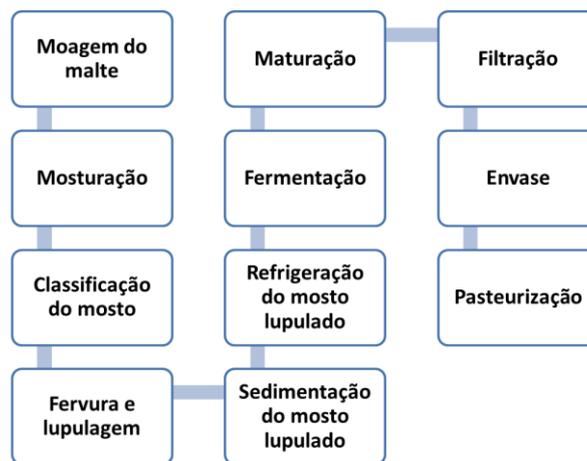


Figura 1: Fluxograma do Processo de Fabricação de Cerveja

Fonte: Adaptado de Oliveira (2009)

2.2. Pasteurização

A pasteurização é um tratamento térmico que utiliza temperaturas menores que 100°C e possui como objetivo a eliminação de microrganismos contaminantes, em alguns casos patogênicos, e aumentar o tempo de prateleira dos alimentos submetidos a este processo (FELLOWS, 2008).

O tratamento é dependente da temperatura e do tempo e possui como nomenclatura Unidade de Pasteurização (UP). A UP refere-se ao tratamento térmico equivalente a 1 minuto a 60°C e pode ser calculada a partir da equação (1) (STORGARDS, 2000).

$$UP = t \times 1,393^{T-60} \quad (1)$$

Sendo “t” o tempo do tratamento térmico e “T” a temperatura utilizada na pasteurização.

Algumas reações químicas acontecem na fase de pasteurização que podem afetar negativamente o paladar. Portanto, a pasteurização deve ser um processo bem regulado para que o tempo que a cerveja é submetida ao aquecimento seja o mínimo possível. (OLIVEIRA, 2009)

A pasteurização demasiada ou superpasteurização acarreta desnaturação de proteínas da cerveja, o que contribui para diminuir a qualidade do produto final pela formação de guimões e pela alteração negativa do sabor.

2.3. Bactérias e leveduras contaminantes da cerveja

A cerveja possui condições de crescimento bacteriano somente para um grupo específico de microrganismos. Classifica-se como microrganismos nocivos à cerveja, todo aquele que modificar e, conseqüentemente, prejudicar a cerveja produzida (TAFFAREL, 1998).

Dentre os microrganismos que mais causam contaminação em cervejarias, podemos citar as bactérias gram-positivas, bactérias gram-negativas e as leveduras selvagens.

2.3.1. Gram-positivas

Dentre as principais bactérias Gram-positivas danosas à cerveja, estão as bactérias ácido lácticas pertencentes aos gêneros *Lactobacillus spp.* e *Pediococcus spp.*. As bactérias ácido lácticas são conhecidas por serem as que mais contaminam cervejas, chegando a aproximadamente 70% de todas as contaminações existentes (SUZUKI et al., 2006).

A deterioração que as bactérias ácido lácticas podem causar nas cervejas são o aumento da turbidez, acidez e alguns odores desagradáveis. O odor mais característico que estas bactérias proporcionam às cervejas é doce e amanteigado ou de mel (DRAGONE et al, 2007).

2.3.2. Gram-negativas

Algumas espécies de microrganismos gram-negativos também deterioram a cerveja. As bactérias dos gêneros *Pectinatus*, *Megasphaera*, *Zymomonas* e *Enterobacteriaceae* são os indivíduos mais importantes (DRAGONE et al, 2007).

Embora deteriorantes da cerveja, as bactérias gram-negativas aeróbicas tem encontrado dificuldades de crescimento pela redução de oxigênio durante e depois do

processo. Apesar disso, bactérias anaeróbias como *Pectinatus* e *Megasphaera* contaminam as cervejas com frequência bem maior (VAUGHAN et al. 2005).

Pectinatus possui um percentual alto de contaminação, que pode chegar a 30% dos casos. Esta bactéria provoca aumento da turbidez e cheiro desagradável de ovo podre. Já *Megasphaera* possui 7% dos casos e causa um cheiro fétido na cerveja (VAUGHAN et al. 2005).

2.3.3. Leveduras Selvagens

Leveduras que não foram utilizadas como inóculo no processo de fermentação e, conseqüentemente, são diferentes da levedura cervejeira, são consideradas leveduras selvagens. Estas leveduras selvagens são divididas em *Saccharomyces não-Saccharomyces*. Os efeitos na cerveja que estes microrganismos podem causar são odores atípicos e fenólicos à cerveja (DRAGONE et al, 2007).

O crescimento das leveduras selvagens no produto acabado pode causar grandes riscos pela produção de dióxido de carbono, o qual pode levar à explosão da garrafa (VAUGHAN et al. 2005).

Apesar dos efeitos negativos, as leveduras selvagens não serão analisadas no âmbito deste trabalho.

2.3.4. Efeitos negativos na cerveja

Todos os microrganismos que podem de alguma forma contaminar a cerveja, podem causar diversos efeitos desagradáveis nas cervejas. O Quadro 1 mostra os efeitos degradantes que as bactérias e as leveduras selvagens podem provocar no produto final.

Quadro 1: Principais efeitos no paladar na cerveja causados pelos microrganismos

MICROORGANISMOS	EFEITO NO PALADAR NO PRODUTO FINAL
Leveduras Selvagens	Ésteres, compostos fenólicos, diacetil, álcool fúsel e H ₂ S
<i>Lactobacillus/Pediococcus</i>	Ácido láctico e acético, diacetil e acetoina
<i>Acetobacter, Gluconobacter</i>	Ácido acético
<i>Enterobacteria</i>	Acetaldeído, álcool fúsel, ácido acético e compostos fenólicos
<i>Zymomonas</i>	Acetaldeído e H ₂ S
<i>Pectinatus</i>	H ₂ S, metil mercaptano, acetoina, ácido láctico, acético e succínico
<i>Megasphaera</i>	H ₂ S, acetoina, ácido acético, butanoico, valérico e caproico
<i>Selenomonas</i>	Ácido acético, láctico e propanoico
<i>Zymophilus</i>	Ácido acético e propanoico
<i>Brevibacillus</i>	-
<i>Clostridium</i>	Ácido butanoico, caproico, propanoico e valérico

Fonte: Adaptado de STORGARDS (2000).

2.3.5. Pontos de contaminação

Estas bactérias gram-positivas e gram-negativas e também as leveduras selvagens, podem entrar em contato com a cerveja em diversos pontos do processo. Os principais pontos de contaminação de uma cervejaria e, por analogia, da microcervejaria estudada, podem ser vistos no fluxograma de processo da Figura 2.

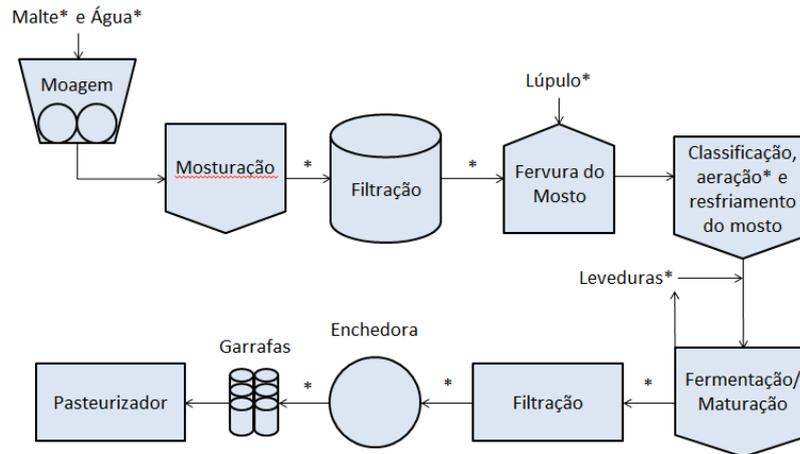


Figura 2: Principais pontos de contaminação em uma cervejaria representados por (*).

Fonte: Adaptado de VAUGHAN et al. (2005).

2.4. Assepsia da cervejaria

A assepsia de uma cervejaria é de extrema importância para a prevenção às possíveis contaminações pelos microrganismos. Por este motivo, as cervejarias devem possuir rotinas de limpeza dos equipamentos e instalações fabris. Porém, muitas vezes, as limpezas de rotina não são suficientes para remover toda a sujeira.

Para tornar a assepsia mais eficiente, a utilização de sanitizantes à base de ácido peracético ou de peróxido de hidrogênio, além de detergentes alcalinos, possuem grande poder contra os microrganismos (REINOLD, 2004).

2.5. Pasteurizador

O tamanho do sistema de pasteurização é determinado pela quantidade que se quer produzir. Este sistema deve ser equipado com vários controladores, o que permite a otimização do processo (REINOLD, 2009).

O equipamento responsável pela pasteurização e, conseqüentemente, pela eliminação dos microrganismos contaminantes da cerveja é o pasteurizador. Este equipamento possui algumas variações, que são relacionadas à quantidade de produção.

Pasteurizadores de túnel são utilizados em processos de larga escala, por exemplo, e apresentam alto grau de controle. A Figura 3 mostra um pasteurizador de túnel (ZIELONCA, ANSELMO, 2008).

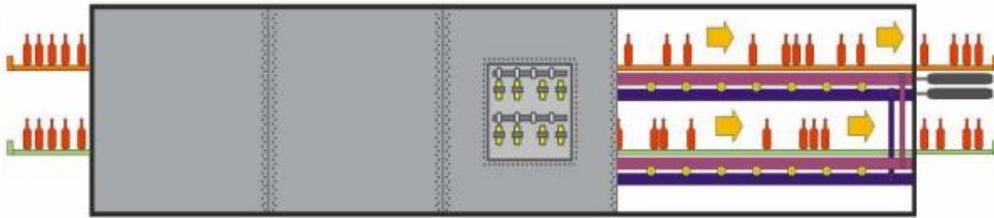


Figura 3: Pasteurizador de túnel

Fonte: ZIELONCA, ANSELMO (2008)

Já em cervejarias menores, com produção em baixa escala, pode-se utilizar outro tipo de equipamento. A Figura 4 mostra um esquema de um pasteurizador retangular, que funciona por imersão das garrafas em água. Basicamente, o processo de pasteurização neste tipo de equipamento, é um “banho-maria” dos vasilhames em água.



Figura 4: Pasteurizador Retangular

Fonte: <http://www.microcervejarias-dragonbier.com/pasteurizadores.php>

2.6. Teste de Coloração de Gram

O teste de coloração de gram foi desenvolvido pelo bacteriologista dinamarquês Hans Christian Gram e consiste simplesmente em corar os microrganismos com a ajuda de corantes, os quais enfatizam certas estruturas. Este teste é um dos procedimentos de coloração mais úteis, pois consegue classificar em dois grupos de bactérias: as gram-positivas e as gram-negativas (TORTORA et al, 2011).

2.7. Método PDCA

O PDCA é um método de gestão oriunda dos japoneses e muito difundida no Brasil. Este método é a alma do sistema Toyota de Produção e viabiliza o gerenciamento científico de uma organização. Os objetivos do método PDCA são de gerenciamento da rotina, de solução de problemas e de melhoria contínua dos processos e o segredo está em estabelecer um bom plano de ação para as metas de melhoria estabelecidas.

O método de solução de problemas (PDCA) é dividido em quatro: Planejar (*Plan*), Executar (*Do*), Verificar (*Check*) e Atuar (*Action*), que também pode ser nominado de padronizar (CAMPOS, 2013).

3. METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado na cervejaria Távola e no Laboratório de Imunologia e Microbiologia da Faculdade de Biociências, da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

O trabalho teve como foco a quarta etapa do processo de produção da cerveja, especificamente na parte de pasteurização do produto final. Porém, a partir dos resultados obtidos, outras etapas do processo foram analisadas em detalhe.

A metodologia de trabalho teve como base a análise do pasteurizador em diferentes tempos de pasteurização. Após as pasteurizações, amostras duplicadas de cada pasteurização, além de amostras sem pasteurização, foram coletadas para ser analisadas no Laboratório de Imunologia e Microbiologia. As amostras foram testadas pelo Método de Coloração Gram.

Pelo fato do Método de Coloração de Gram apresentar resultados para bactérias gram-positivas e gram-negativas, que representam mais de 70% das contaminações em cervejarias, ele foi escolhido em detrimento de outros testes. As leveduras selvagens devem ser analisadas através de crescimento por meios de cultura específicos e caros, o que inviabilizou a sua análise neste momento.

3.1. Análise do processo de pasteurização

Antes do processo de pasteurização, o lote de cerveja foi totalmente envasado em garrafas através de uma enchedora composta de dois bicos de enchimento, nominados de Bico 1 (à esquerda) e Bico 2 (à direita). A Figura 5 mostra a enchedora de garrafas.



Figura 5: Enchedora de garrafas

Após o enchimento de todo o lote de cerveja, o teste de pasteurização foi iniciado, onde foram testados três tempos de pasteurização. O primeiro deles foi realizado com o tempo já praticado pela cervejaria que é de 5 minutos. Para os outros dois tempos, foi escolhido um tempo acima do já praticado e um tempo abaixo, que foram de 7,5min e 2,5min, respectivamente.

O equipamento de pasteurização da microcervejaria é de formato retangular e possui como método de aquecimento da água, duas resistências localizadas ao fundo. A pasteurização ocorre com as garrafas em imersão em água dentro do pasteurizador. A Figura 6 mostra o equipamento de pasteurização da microcervejaria.



Figura6: Pasteurizador da microcervejaria

Para cada um dos tempos de pasteurização, duas garrafas foram selecionadas do lote. Para o teste de 5min, por exemplo, as garrafas foram colocadas dentro do pasteurizador e ao centro foi colocada uma garrafa de controle com um sensor de temperatura. Quando a temperatura da água marcava 60°C, o tempo de 5min para a pasteurização começava a ser

monitorado. Depois de transcorrido este tempo, o pasteurizador era esvaziado e as garrafas ficavam dentro do pasteurizador para resfriar. Todos os tempos foram tabelados, bem como a elevação de temperatura acima do esperado, ocasionado por inércia térmica do equipamento. Para os outros tempos, o procedimento foi o mesmo.

3.2. Coleta das amostras

Foram coletadas amostras para 3 diferentes tempos de pasteurização e para os 2 bicos de enchimento. Para cada uma das 5 situações, 2 garrafas foram utilizadas, sendo que 1 amostra de cada garrafa foi coletada, totalizando 10 amostras.

Para a coleta das amostras, o Laboratório de Imunologia e Microbiologia forneceu microtubos, chamados de Eppendorf, com 1,5 ml e também Pipetas de Pasteur, ambos esterilizados. A Figura 7 abaixo mostra uma das garrafas de cerveja, o Eppendorf e uma Pipeta de Pasteur.



Figura 7: Instrumentos para a coleta das amostras

A coleta foi realizada de maneira rápida, com a utilização de máscara, assepsia das mãos com álcool etílico e sanitização do ar com ácido peracético. Após a abertura das garrafas de cerveja, com o auxílio da pipeta de Pasteur, os Eppendorfs foram preenchidos, tampados e lacrados com fita adesiva. Logo depois, as amostras foram armazenadas na câmara fria, para, no dia seguinte, serem levadas ao laboratório para análise. O Quadro 2 mostra a nomenclatura das amostras levadas ao Laboratório de Imunologia e Microbiologia.

Quadro 2: Nomenclatura das amostras

Amostra	NPB1A	NPB1B	NPB2A	NPB2B	P1A	P1B	P2A	P2B	P3A	P3B
	Bico 1	Bico 1	Bico 2	Bico 2	2,5min	2,5min	5,0min	5,0min	7,5min	7,5min

3.3. Teste de Coloração Gram

Os 10 Eppendorfs contendo as amostras de cerveja foram analisados no Laboratório de Imunologia e Microbiologia. Para o teste, os Eppendorfs foram abertos e, para cada um deles, foram segregados 0,5 ml da amostra para outro Eppendorf com auxílio de uma pipeta. Após esta separação, estes Eppendorfs foram centrifugados a 2.000 rpm durante 2 min, a fim de decantar as células presentes nas amostras. Logo após a centrifugação, o sobrenadante foi retirado do Eppendorf e 5 µL da amostra restante foram pipetados em lâminas para observação no microscópio.

Cada uma das 10 lâminas foi coberta com corantes de gram para a coloração das bactérias. No caso das gram-positivas, a cor é roxa e das gram-negativas, a cor é rosa/vermelha. O Método de Coloração de Gram é descrito a seguir e a figura 8 mostra a aplicação dos corantes

Descrição do método de coloração de gram:

- a) Colocar uma gota da amostra em uma lâmina;
- b) Passar a lâmina perto do fogo até fixar a amostra à lâmina;
- c) Cobrir toda a lâmina com solução cristal violeta (corante roxo), aguardar um minuto;
- d) Lavar rapidamente em água destilada;
- e) Cobrir a lâmina com solução de Iugol (mordente) por um minuto;
- f) Lavar em água destilada;
- g) Inclinar a lâmina e gotejar álcool-acetona ou álcool absoluto (cerca de 15 segundos).
Lavar a lâmina rapidamente em água corrente;
- h) Cobrir com fucsina de gram e aguardar 30 segundos;
- i) Lavar a lâmina em água destilada e secar (sem esfregar);

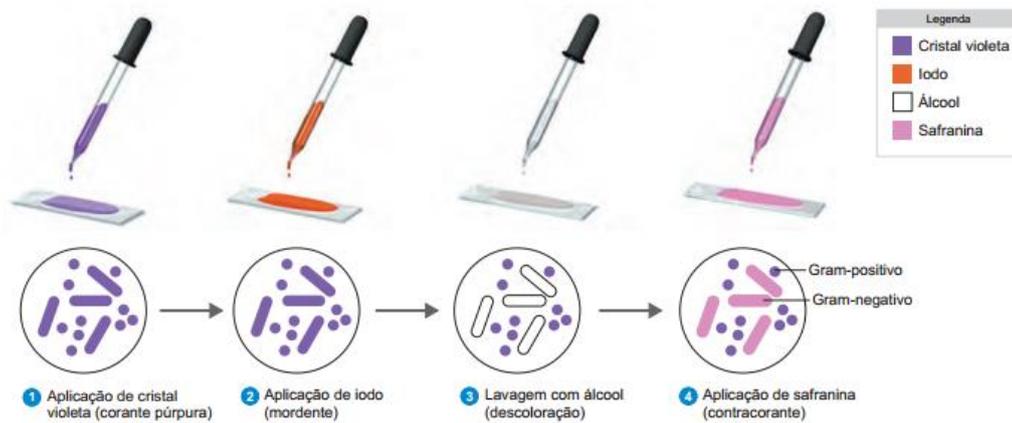


Figura 8: Método de Coloração de Gram, TORTORA et al (2011).

Após este procedimento de preparação, as lâminas foram observadas em microscópio. Para isso, foi colocada uma gota de óleo de cedro sobre a lâmina para auxiliar na visualização. O microscópio pode ser visualizado na Figura 9.

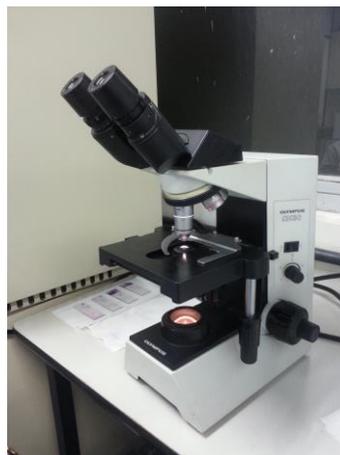


Figura 9: Microscópio para visualização das amostras

Todas as amostras foram observadas e fotografadas. Os resultados obtidos foram compilados para que as fotos dos microrganismos pudessem ser comparadas.

3.4. Aplicação do PDCA

Após os resultados do teste de coloração de gram e da análise do processo de pasteurização, o PDCA foi utilizado para elaborar um plano de ação de melhoria e solucionar o problema constatado: contaminação de microrganismos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Resultado da Análise do Processo de Pasteurização

As análises do processo de pasteurização para os tempos pré-determinados para os testes estão representadas nos quadros abaixo. Os Quadros 2, 3 e 4 mostram a temperatura, tempo e respectivas UPs para a pasteurização de 2,5 minutos, 5,0 minutos e de 7,5 minutos, respectivamente.

Quadro 3: Pasteurização 2,5 min

Temperatura (°C)	t(min)	t(min) acumulado	UP	UP acumulado
60	1,23	1,2	1,23	1,2
61	1,26	2,5	1,76	3,0
62	4,58	7,1	8,89	11,9
61	2,63	9,7	3,67	15,6
60	2,13	11,9	2,13	17,7
Total	11,85		17,69	

Quadro 4: Pasteurização 5,0 min

Temperatura (°C)	t(min)	t(min) acumulado	UP	UP acumulado
60	1,20	1,2	1,20	1,2
61	1,13	2,3	1,58	2,8
62	1,65	4,0	3,20	6,0
63	1,76	5,8	4,78	10,8
64	1,10	6,9	4,14	14,9
63	0,71	7,6	1,94	16,8
62	1,25	8,8	2,43	19,3
61	3,15	12,0	4,39	23,6
60	0,46	12,4	0,47	24,1
Total	12,43		24,12	

Quadro 5: Pasteurização 7,5 min

Temperatura (°C)	t(min)	t(min) acumulado	UP	UP acumulado
60	1,35	1,4	1,35	1,4
61	1,35	2,7	1,88	3,2
62	1,70	4,4	3,30	6,5
63	2,05	6,5	5,54	12,1
64	6,00	12,5	22,59	34,7
63	0,53	13,0	1,44	36,1
62	0,40	13,4	0,78	36,9
61	0,41	13,8	0,58	37,5
60	0,36	14,2	0,37	37,8
Total	14,16		37,83	

Podemos perceber que o tempo total de pasteurização para os três tempos propostos são bem maiores. Os tempos de pasteurização de 2,5min, 5,0min e 7,5 min são, na verdade de 11,85min, 12,43min e 14,16min respectivamente. Este fenômeno ocorre, pelo fato da temperatura subir mais do que o necessário. Apesar do desligamento do pasteurizador nos tempos propostos, ocorre uma inércia térmica, que faz com que a temperatura aumente um ou dois graus, prejudicando o controle da pasteurização, uma vez que as UPs aumentam exponencialmente conforme o aumento da temperatura e fazendo com que ocorra pasteurização também no resfriamento da cerveja.

O gráfico da Figura 10 mostra os três tempos de pasteurização obtidos e registra a demora e a ausência de procedimento padronizado para o resfriamento das garrafas de cerveja durante o processo.

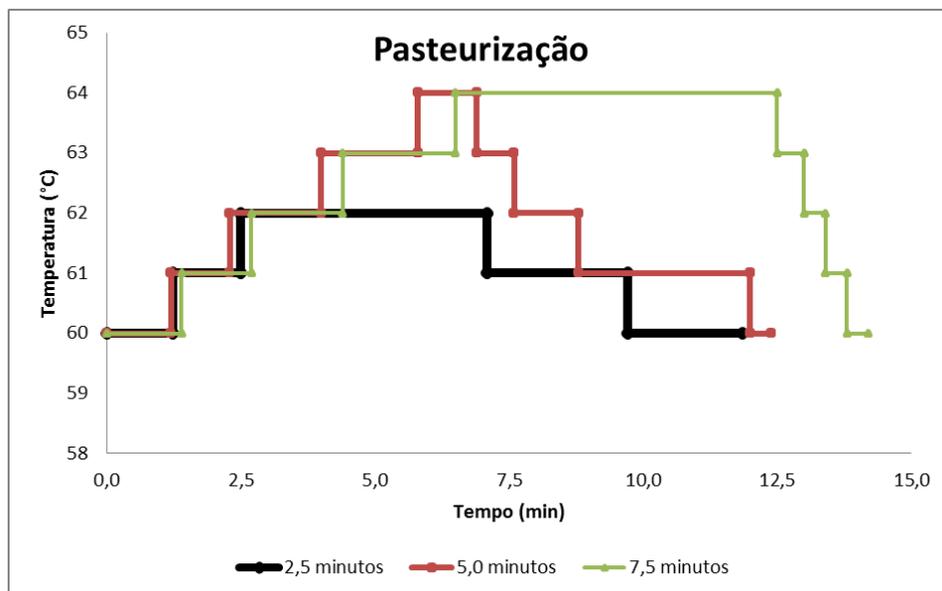


Figura 10: Gráfico com o comportamento das pasteurizações

Este comportamento de pasteurização não permite um controle exato de como a pasteurização está sendo realizada. Porém mostra que dentre os tempos de pasteurização executados, o mais próximo do ideal é o de 5 minutos.

Segundo (STORGARDS, 2000), todos os microrganismos contaminantes da cerveja são eliminados com 30 UPs. Grande parte dos contaminantes, como *lactobacilli* e *pediococi*, são mortos com até 15 UPs. *Lactobacillus lindneri*, pode suportar até 17 UPs e o *Lactobacillus frigidus* até 27 UPs. Isso explica o fato da pasteurização de 5min ser a mais ideal para o processo, precisando somente de alguns ajustes, pois UPs maiores podem superpasteurizar a cerveja e também ocasionar efeitos indesejados.

4.2. Resultado do Teste de Coloração de Gram

O Teste de Coloração de Gram é um teste puramente visual para bactérias gram-positivas e gram-negativas. O resultado esperado para este teste era uma tendência de diminuição da visualização das bactérias conforme o aumento do nível de pasteurização. A Figura 11 mostra o resultado do teste.

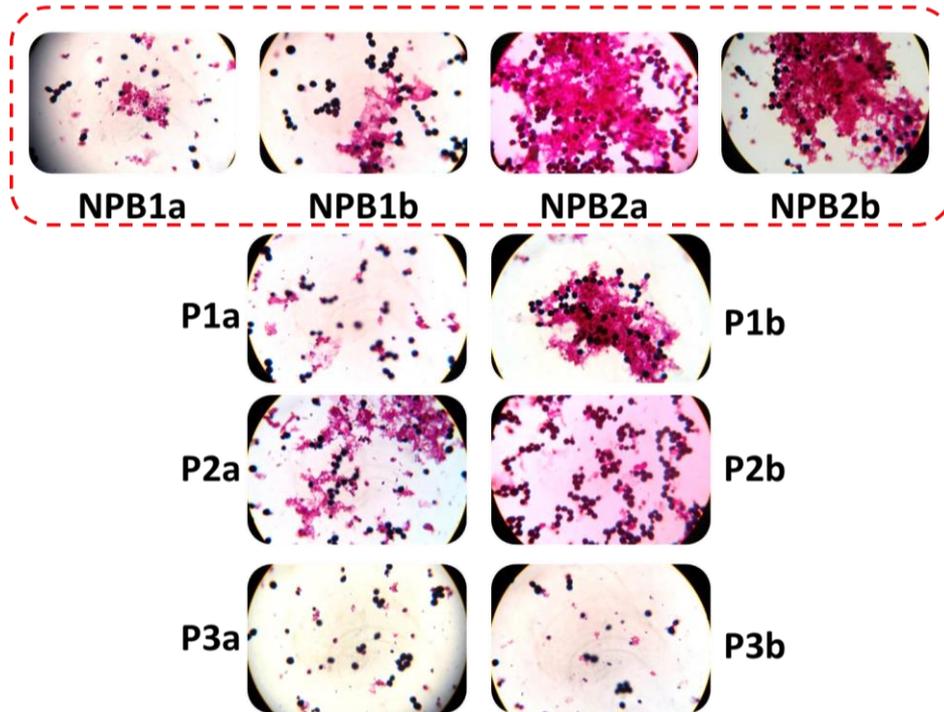


Figura 11: Teste de Coloração de Gram

Na figura 11, podemos observar claramente a diminuição da coloração rosa/vermelha conforme o aumento da pasteurização. Podemos observar também que, dentre as amostras não pasteurizadas, as amostras NPB2a e NPB2b, que representam o Bico 2 da enchedora de garrafas, possui visualmente mais bactérias que as amostras não pasteurizadas do Bico 1.

4.3. Planejar

4.3.1. Estratificação do Problema

Após o resultado dos testes de coloração de gram, o processo de sanitização da fábrica, que já é muito rigoroso, passou por uma nova verificação. Os possíveis pontos de contaminação foram revistos, a fim de identificar possíveis locais que a assepsia não foi tão profunda.

Já o resultado da análise do processo de pasteurização, foi subsídio para um estudo mais aprofundado do problema, principalmente a parte do controle das temperaturas do processo. Tendo em vista que o equipamento não pode ser substituído, e as resistências continuarão a apresentar aumento da temperatura após desligadas, o foco de atuação deve ser na etapa de resfriamento do processo.

4.3.2. Diagrama de Causa e Efeito

Com o intuito de identificar as possíveis causas para a contaminação da cerveja ao final do processo e também para o baixo controle do processo de pasteurização, foi utilizada uma ferramenta chamada espinha de peixe. Esta ferramenta ajuda a visualizar o problema a ser resolvido e suas possíveis causas. Foram feitos dois diagramas para os problemas identificados. Um para a contaminação da cerveja e o outro para o controle do processo de pasteurização. O diagrama de espinha de peixe é mostrado na Figura 12.

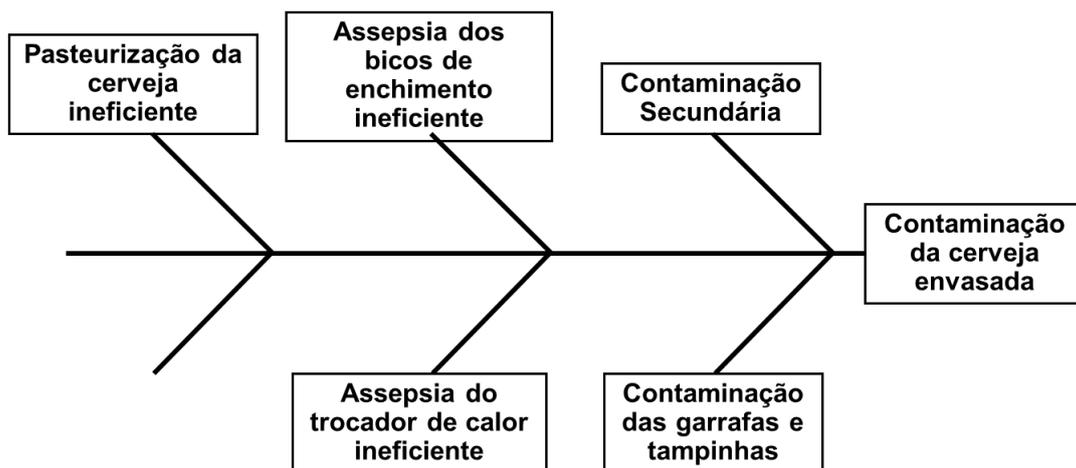


Figura 12: Possíveis Causas para a contaminação da cerveja envasada

4.3.3. Priorização das Causas

Após o levantamento das possíveis causas para os problemas estudados, as causas podem ser priorizadas, para que a causa raiz seja atacada primeiramente. Para priorizar as causas, foram atribuídas notas para cada uma delas que são divididas em 1 (pouca influência no problema), 3 (média influência no problema) e 5 (muita influência no problema). O Quadro 6 mostra a priorização para os dois problemas.

Quadro 6: Priorização das causas da cerveja contaminada

Pontuação	Possível Causa
1	Pasteurização da cerveja ineficiente
5	Assepsia dos bicos de enchimento ineficiente
1	Contaminação Secundária
5	Assepsia do trocador de calor ineficiente
3	Contaminação das garrafas e tampinhas

4.3.4. Plano de Ação

Tendo sido realizada a priorização das causas, foi elaborado um plano de ação para eliminar o problema identificado, orientando-se então no método PDCA. O Quadro7 apresenta o plano de ação elaborado no formato de uma ferramenta de qualidade para estabelecer diretrizes para as ações propostas.

Quadro 7: Plano de ação

Possível Causa	O que?	Por que?	Onde?	Como?
Assepsia dos bicos de enchimento ineficiente	Estabelecer sistemática de assepsia para os bicos de enchimento	Para evitar contaminação no local	No equipamento	Fazendo a limpeza do equipamento regularmente
Assepsia do trocador de calor ineficiente	Estabelecer sistemática de assepsia para o trocador de calor	Para evitar contaminação no local	No equipamento	Fazendo a limpeza do equipamento regularmente
Contaminação das garrafas e tampinhas	Evitar o contato com as garrafas limpas e com as tampinhas	Para evitar a contaminação das garrafas e tampinhas	Na fábrica	Padronizando o envase da cerveja
Contaminação Secundária	Seguir as regras de assepsia da fábrica	Para evitar contaminação secundária	Na fábrica	Cumprindo o checklist de assepsia
Pasteurização da cerveja ineficiente	Aumentar o controle sobre a pasteurização	Para padronizar a pasteurização	No pasteurizador	Estabelecendo controle na pasteurização

4.4. Executar

A partir do plano de ação, que estabeleceu as diretrizes para atacar as possíveis causas do problema, foram realizadas as ações priorizadas. Os bicos de enchimento e o trocador de

calor receberam sanitização diferenciada com ácido peracético, o que estabeleceu um ajuste no cronograma de limpezas da fábrica.

Quanto à possível contaminação das garrafas e tampinhas, um estudo sobre este tema está sendo planejado. Provavelmente este trabalho será realizado com a ajuda de *swab*, que é um bastão com algodão em sua ponta. Este bastão é utilizado para raspar a superfície das garrafas, por exemplo, e levado ao laboratório para verificar a presença de microrganismos.

Através deste estudo, também foi visto a necessidade de ajustar a pasteurização da fábrica. Por este motivo, está sendo desenvolvido internamente um chuveiro, que será acoplado ao equipamento pasteurizador. O intuito deste chuveiro é fazer com que as garrafas resfriem de maneira mais rápida e uniforme.

4.5. Verificar

Após as modificações propostas para o trabalho de assepsia da fábrica, especialmente nos locais identificados como possíveis focos de contaminação, ou seja, nos bicos de enchimento e no trocador de calor, um novo teste foi realizado para comparar com os primeiros resultados.

O novo teste de coloração de gram foi realizado para amostras dos dois bicos de enchimento e para o tempo de pasteurização de 5 minutos. Os resultados são apresentados na Figura 13.

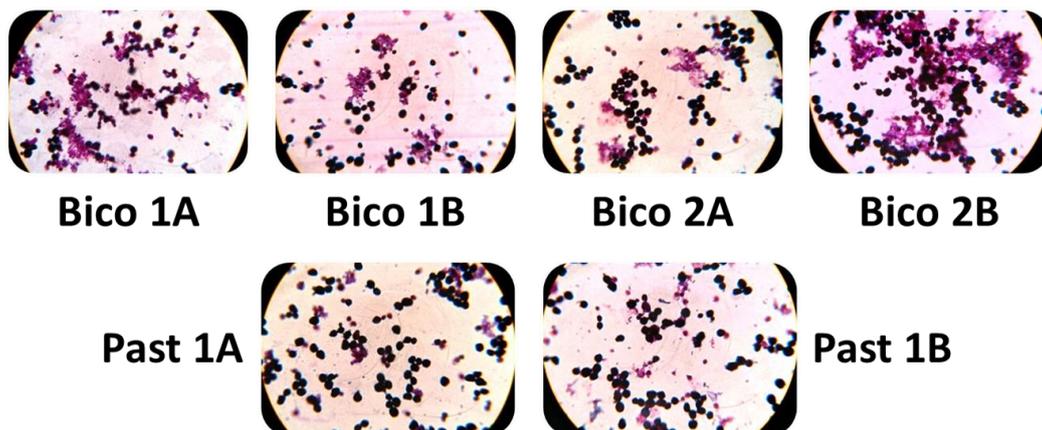


Figura 13: Teste de Coloração de Gram após a assepsia

Esta última pasteurização obteve como resultado um tempo total de 12,75 minutos e 22,18 Unidades de Pasteurização.

Para comparar os dois resultados, as fotos foram agrupadas lado a lado, no intuito de visualizar as diferenças entre os dois testes realizados. A Figura 14 mostra a comparação.

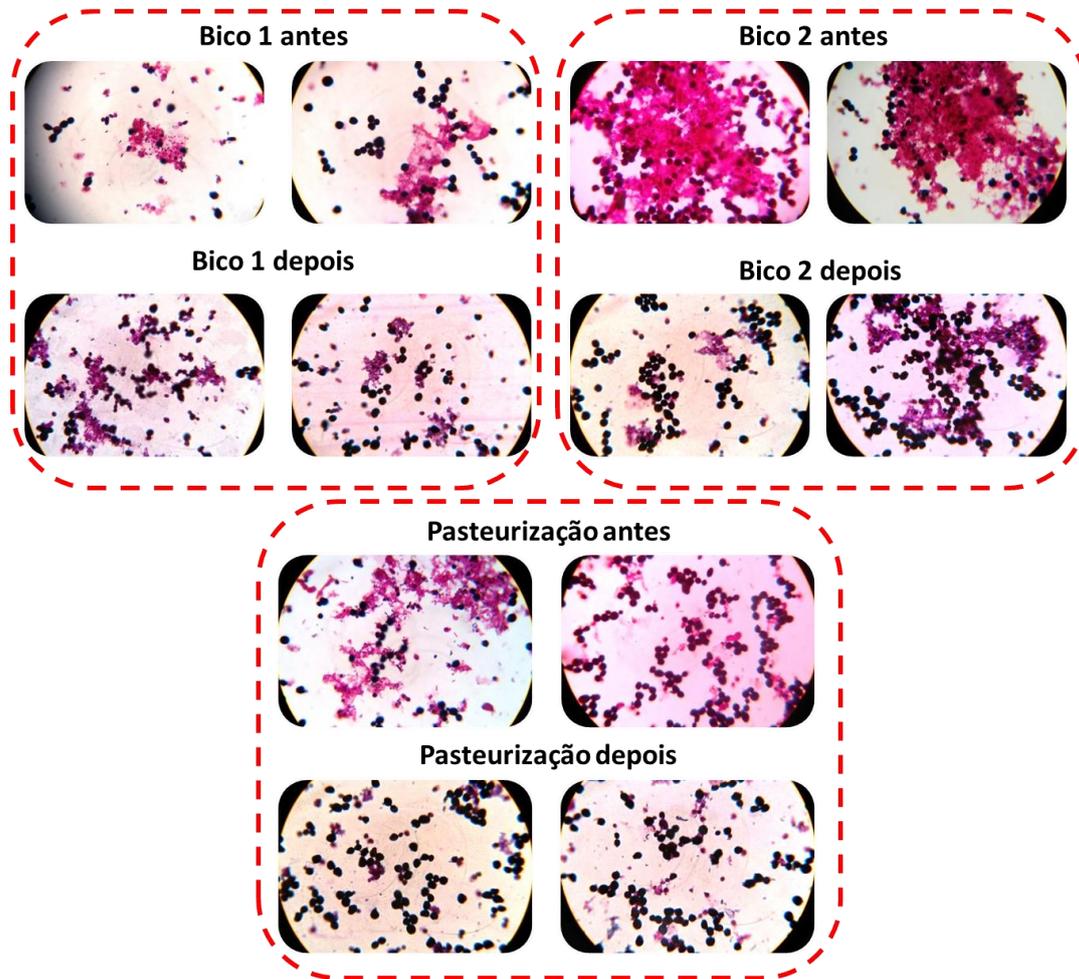


Figura 14: Comparação entre os Testes de Coloração de Gram antes e depois

Podemos visualizar, na comparação dos dois testes, que após o trabalho de assepsia realizado na microcervejaria, houve diminuição da coloração rosa/vermelha das amostras, principalmente no bico 2 de enchimento e na própria pasteurização. Já no bico 1, a diminuição não foi muito representativa, provavelmente pela pouca coloração nos primeiros testes realizados.

Com estes resultados, é possível perceber a importância que a assepsia possui na microcervejaria. Apesar do rígido cronograma de limpeza e assepsia da fábrica, com estes resultados e melhorias propostas, foi possível identificar pontos que necessitam cuidado especial nestas rotinas de limpeza.

4.6. Padronizar

A partir dos resultados obtidos nos teste de coloração de gram, foi identificada a grande importância da sanitização dos mais variados locais em uma cervejaria.

Esta etapa do PDCA visa padronizar as atividades que geraram resultados para o processo. A inclusão do trocador de calor e dos bicos de enchimento no cronograma de limpezas da fábrica faz parte dos ajustes realizados após o começo do trabalho.

5. CONCLUSÃO

O estudo sobre as fontes de contaminação e em especial as contramedidas para a sua minimização foi de grande valor para a microcervejaria. A fábrica possuía antes do trabalho um cronograma rígido de assepsia em suas instalações e com o resultado do trabalho, foi incluído nas suas limpezas de rotina os bicos de enchimento de garrafas e o trocador de calor.

A redução das bactérias gram-negativas pode ser visualizada nas análises das fotos, por causa da diminuição nítida da coloração rosa. Porém, não pode ser afirmado que as gram-positivas tiveram o mesmo efeito, pois não há possibilidade da identificação da sua redução.

Inicialmente, acreditava-se que a pasteurização seria o problema para a contaminação de microrganismos e/ou pasteurização demasiada. Porém, os cálculos de UPs mostraram que a pasteurização, apesar de não ser muito bem controlada, não é o problema. Através do método PDCA, foram identificadas outras possíveis fontes de contaminações para a cerveja e após a sua identificação, foram mitigadas.

É importante salientar que este é o primeiro trabalho relacionado à contaminação na microcervejaria e é a porta de entrada para trabalhos futuros relacionados ao assunto. Para estes próximos trabalhos, uma base de dados maior, bem como a possibilidade de obter uma maior amostragem para os testes em laboratório são necessárias para uma conclusão mais precisa dos resultados. Estes testes de laboratório envolvem as leveduras selvagens e a contagem através de meios de cultura das bactérias e das próprias leveduras.

6. AGRADECIMENTOS

À orientadora Maria Elisabete Haase-Möllmann pela ajuda, ao Professor Artur Proença Bichinho pela disponibilidade da realização do trabalho, ao Luccas Zaffari pela ajuda nos testes na fábrica, à Professora Renata Medina e à Juliana Horstmann pelo apoio nos testes no Laboratório de Imunologia.

REFERENCIAS

CAMPOS, V. F, Gerenciamento da Rotina do trabalho do dia a dia. 9.ed., Nova Lima – MG, 2013. 266 p.

DRAGONE, G; MUSSATTO, S. I.; NOGUEIRA, A. D.; SILVA, J. B. A., Revisão: Produção de Cerveja: Microrganismos Deteriorantes e Métodos de Detecção. Brazilian Journal of Food Technology, Campinas, v. 10, n. 4, p. 241-251, 2007.

FELLOWS, P. J.. Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e práticas. 2. ed. Porto Alegre : Artmed, 2008. 602 p.

LARPET, J. P., Microbiologia prática. São Paulo, 1975. 162 p.

MADRID, A.; CENZANO, I.; VICENTE, J. M., Manual de Indústrias dos Alimentos. São Paulo, 1996. 599 p.

MORADO, R., Larousse da Cerveja. São Paulo, 2009. 357 p.

OLIVEIRA, M. A. B., Cerveja: Análise Sensorial e Fabricação. Caxoeira do Itapemirim, SP. 2009.

PASTEURIZADOR RETANGULAR COM IMERSÃO E CHUVEIRO. Disponível em:< <http://www.microcervarias-dragonbier.com/pasteurizadores.php>>. Acesso em: 15 out. 2014.

REINOLD, M. R., A pasteurização da Cerveja. Revista Indústria de Bebidas, Edição Especial de Cerveja, Ano 08, p. 8-11, 2009.

REINOLD, M.R., Higiene e sanitização geral de áreas críticas, Food Express, Ano V – nº 50, 2004.

STORGARDS, E., Process hygiene control in beer production and dispensing. Espoo. Technical Research Centre of Finland, VTT Publications 410, 2000. 105 p.

SUZUKI, K.; IJIMA, K.; SAKAMOTO, K.; SAMI, M.; YAMASHITA, H., A review of hop resistance in beer spoilage lactic acid bacteria. Journal of the Institute of Brewing, London, v. 112, n. 2, p. 173-191, 2006.

VAUGHAN, 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.

TAFFAREL, D., Treinamento em Microbiologia e Assepsia Industrial. Águas Claras do Sul, 1998.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.I. Microbiologia, 10ª. ed., Porto Alegre: Editora Artmed, 2011.

ZIELONCA, P. W.; ANSELMO, A.A., Automatização do Equipamento de Pasteurização PZ501-001. Curitiba, 2008.