

Produção industrial de enzimas e aplicações no processo cervejeiro: uma revisão da literatura

Heder Jobbins de Arruda (UTFPR) heder@alunos.utfpr.edu.br

Resumo:

As enzimas são catalisadores naturais de grande importância nas mais variadas indústrias, como alimentícia, farmacêutica, têxtil e de papel e celulose. Estas podem ser extraídas de fontes vegetais ou animais, mas a obtenção através de fermentação por fontes microbianas possibilita a produção em larga escala de enzimas com alta pureza. No processo cervejeiro, é fundamental a ação das enzimas presentes no malte, especialmente na quebra de açúcares presentes na matéria-prima, mas a adição de enzimas industriais pode aumentar o rendimento e eficiência do processo. O objetivo deste trabalho buscar na literatura informações relevantes sobre a produção industrial e o mercado de enzimas, além de aspectos gerais sobre o processo cervejeiro na região de Ponta Grossa e a utilização de enzimas industriais neste processo.

Palavras chave: Enzimas, Processos Industriais, Cervejaria.

Industrial production of enzymes and applications in the brewing process: literature review

Abstract

Enzymes are natural catalysts of great importance in the most varied industries, such as food, pharmaceutical, textile and paper and cellulose. These can be extracted from plant or animal sources, but the obtaining through fermentation by microbial sources allows the large scale production of enzymes with high purity. In the brewing process, the action of the enzymes present in the malt is essential, especially in the breaking of sugars present in the raw material, but the addition of industrial enzymes can increase the yield and efficiency of the process. The objective of this work is to search the literature for relevant information on industrial production and the enzyme market, as well as general aspects about the brewing process in the region of Ponta Grossa and the use of industrial enzymes in this process.

Key-words: Enzymes, Industrial Process, Brewery.

1. Introdução

Enzimas são catalisadores biológicos de natureza proteica que participam de várias reações bioquímicas, tendo como papel fundamental o controle metabólico (COELHO, SALGADO e RIBEIRO, 2008). São essenciais para o sistema metabólico de todos os organismos vivos e possuem um papel fundamental na degradação da matéria orgânica, na infecção do hospedeiro e deterioração dos alimentos (LEHNINGER e COX, 1985).

O termo enzima foi introduzido pela primeira vez por volta de 1878 por Willian Kühne (do grego en = dentro zyme = levedura) para designar as substâncias contidas nos extratos de levedura usados em fermentação.

As enzimas podem ser classificadas de acordo com as reações que catalisam: as oxidoredutases catalisam reações de oxidoreduções; as transferases, catalisam reações de transferência de grupos funcionais; hidrolases, que catalisam reações de hidrólise; liases, catalisam quebra de ligações; isomerases, catalisam reações onde um substrato transforma-se em um produto isômero e ligases, catalisam a ligação covalente de moléculas, com simultânea quebra de uma ligação de alta energia (ORLANDELLI et al, 2012).

Uma das principais vantagens na utilização de enzimas se dá pela sua alta especificidade, tanto por algum substrato, quanto por uma reação bioquímica, permitindo a produção de um produto específico. Outras vantagens são as condições suaves de reação e a redução de problemas ambientais e toxicológicos (COELHO, SALGADO e RIBEIRO, 2008). Em 1894, Emil Fischer postulou que essa especificidade se deve ao fato de que tanto as enzimas quanto os substratos são complementares geometricamente, um modelo que ficou conhecido como modelo “chave-fechadura” (MONTEIRO e SILVA, 2009).

As desvantagens da utilização em processos industriais são a alta sensibilidade a variações de pH, devido a serem formadas por grupos químicos que podem sofrer ionizações e adquirir cargas momentâneas e a sensibilidade a altas temperaturas, causando rompimento de ligações e interações fracas (MONTEIRO e SILVA, 2009). Cada enzima tem um pH e uma temperatura no qual a atividade é máxima.

Desta forma, enzimas tem grande utilização como catalisadores na indústria de alimentos, bem como farmacêutica, têxtil, papel e celulose e na saúde humana e animal.

O processo de produção de cerveja conta com a ação enzimática para obter seu produto final. Grande parte destas enzimas está presente na matéria prima utilizada, porém em alguns casos se faz necessário a adição de enzimas industrializadas no processo, seja para aumentar o rendimento do processo, controlar uma deficiência enzimática na matéria prima utilizada, reduzir o consumo de materiais e insumos e o tempo de processo ou mesmo quando se quer a produção de cervejas especiais.

Os objetivos deste trabalho são realizar uma revisão na literatura sobre a produção industrial de enzimas, buscar aspectos referentes ao mercado de enzimas industriais, além da utilização de enzimas no processo cervejeiro em especial na cidade de Ponta Grossa.

2. Enzimas Amilolíticas

As amilases constituem um dos grupos mais importantes entre as enzimas industriais com aplicações em diferentes setores, como de alimentos, têxtil, química, farmacêutica e de detergentes. As enzimas amilolíticas são responsáveis por 25 a 33% da produção mundial de enzimas, ficando atrás apenas das proteases (CARVALHO et al, 2008). A α -amilase é a mais importante entre elas.

Embora as enzimas mais estudadas sejam de origem animal ou vegetal, as enzimas microbianas apresentam maior interesse do ponto de vista industrial, pois podem ser obtidas em larga escala através de fermentação. Além disso, são de fácil manipulação e podem ser melhoradas através de tratamentos genéticos (SOUZA, 2012).

É desejável que as enzimas amilolíticas sejam ativas em altas temperaturas (80 a 90°C). Desta forma, as amilases produzidas por microrganismos termofílicos têm recebido considerável atenção na indústria, por serem termoresistentes e possuírem estabilidade em relação a variações de temperatura e pH (CARVALHO et al, 2008).

Amilases e proteases podem ser extraídas em diferentes fontes, microrganismos, animais e vegetais. As fontes microbianas são as mais citadas, e os microrganismos do gênero *Bacillus*

são os mais utilizados, devido a alta taxa de crescimento, curto tempo para fermentação e capacidade de secretar enzimas para o meio extracelular (SOUZA, 2012). Das 48 espécies de *Bacillus* descritas, 32 são capazes de produzir α -amilase, mas poucas são capazes de excretar enzimas ativas em altas temperaturas (CARVALHO, 2007).

Estima-se que 30 a 40% do custo envolvido na produção de enzimas esteja relacionado ao tipo de substrato utilizado. Amido e amiláceos foram descritos como os substratos ideais para a alta produtividade de amilases, podendo ser aproveitado resíduos do processamento de amido e demais resíduos agroindustriais (CARVALHO, 2007).

3. Glucanases

As β -glucanases possuem diferentes aplicações biotecnológicas visto que atuam sobre diversas substâncias naturais que possuem ligações β -1,3- glicosídicas podendo ser aplicadas em indústrias de alimentos, na produção de bebidas como vinhos e cervejas, e também na obtenção de oligossacarídeos que apresentam atividades funcionais. Estas atuam em substratos constituídos de sequências lineares de unidades de glucose unidas através de ligações glicosídicas do tipo β -1,3 contendo uma extremidade terminal não redutora (BAUERMEISTER, 2013).

As β -1,3-glucanases fúngicas foram primeiramente observadas em preparações de celulases produzidas pelo fungo *Aspergillus niger*, sendo posteriormente classificadas como enzimas constitutivas presentes na maioria das espécies fúngicas (GIESE, 2008).

A produção microbiana de β -glucanases extracelulares está relacionada à degradação das β -glucanas presentes como fonte de carbono. Estas enzimas estão envolvidas no processo de autólise dos microrganismos e geralmente não são secretadas para o meio extracelular durante a fase exponencial de crescimento, mas sim durante a fase estacionária (BAUERMEISTER, 2013).

Na indústria cervejeira, as β -glucanas presentes no malte causam problemas na etapa de filtração. A adição de β -glucanases é importante para diminuir a viscosidade e aumentar a liberação de açúcares solúveis presentes nos cereais. A faixa de atuação no cozimento do malte está na faixa de temperatura entre 37 e 45 °C, com pH de 4,5 a 5,5. A necessidade da adição desta enzima se faz quando o teor de adjuntos não-malteados é maior que 25%.

4. Aspectos básicos sobre o processo cervejeiro

Acredita-se que o processo de produção de cerveja foi descoberto por acaso, devido à grande semelhança com os ingredientes de pães. Registros anteriores à escrita já remetem à produção de uma bebida semelhante em 6000 anos a. C. (SILVA et al, 2016). Desde então, ocorreu o desenvolvimento e a popularização ao redor do mundo até chegarmos a produção em escala industrial nos dias de hoje.

As etapas básicas de produção consistem em: moagem; mosturação, cozimento do malte e adjuntos; filtração do mosto com o próprio malte como meio filtrante em tinas de filtração; cozimento do mosto e lúpulo; decantação e clarificação; resfriamento e aeração de mosto com dosagem de levedura; fermentação e maturação; filtração e estabilização e finalmente o envase e distribuição. A Figura 1 mostra um fluxograma básico do processo produtivo:

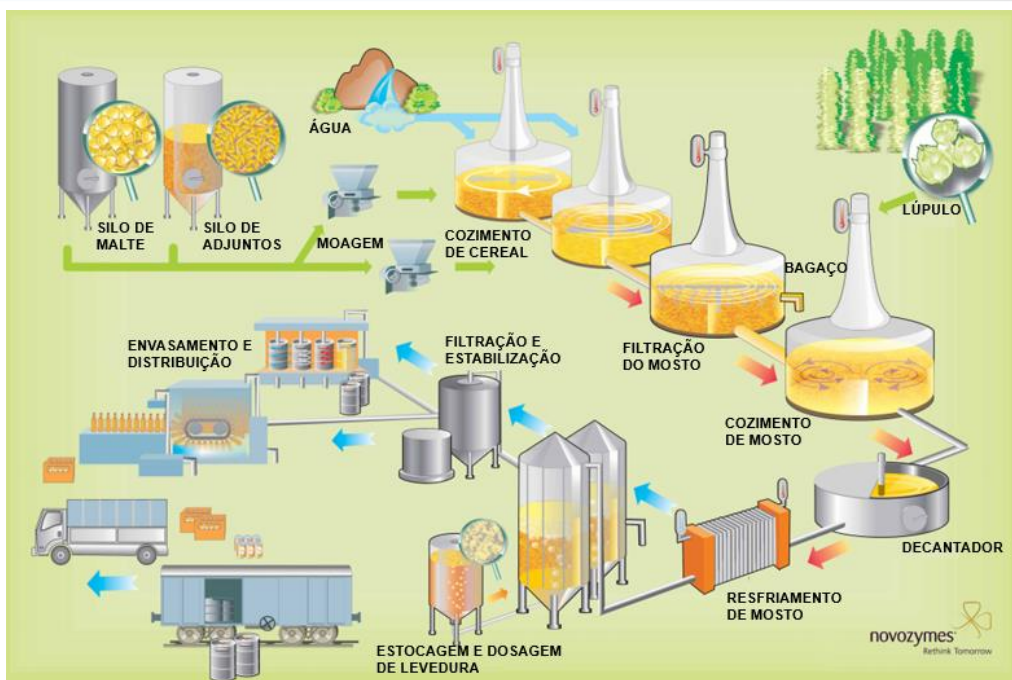


Figura 1: Fluxograma do processo cervejeiro (BIOBLOG, 2016)

Dentro do processo produtivo, há a geração de diversos subprodutos orgânicos sólidos de grande valor agregado: bagaço de malte, trub, levedura residual e terra diatomácea são os principais subprodutos gerados. Estes subprodutos são responsáveis pela perda de aproximadamente 20% da água cervejeira utilizada no processo, devido a teor elevado de umidade que os compõe, gerando arraste de mosto, malte e cerveja, gerando quantidades significativas de efluentes orgânicos (MATHIAS et al, 2014).

5. Aplicação de enzimas industriais na indústria cervejeira

Diversas enzimas têm papel importante na produção da cerveja, dentre todas as transformações ocorridas no processo. A grande maioria já está presente no malte de cevada, no entanto, muitas vezes faz-se necessário a utilização de enzimas exógenas, seja para ajudar no processo de maceração e fermentação ou mesmo reduzir o consumo de água e energia, além de reduzir o tempo de processo. As principais classes de enzimas utilizadas no processo cervejeiro são as amilases, a amiloglucosidases, glucanases, proteases e alfa-acetato descarboxilase (BIOBLOG, 2016).

As principais enzimas utilizadas na brassagem são as amilolíticas alfa-amilase e beta-amilase, além da beta-glucanase. As α -amilases atacam as regiões mais ramificadas e protegidas da amilopectina, com formação de dextrinas que são polissacarídeos que possuem menor peso molecular.

As β -amilases principiam sua ação sobre a extremidade não redutora do amido, liberando unidades de maltose, o que aumenta o poder redutor da solução inicial. (D'AVILA, 2012). Estas enzimas quebram o amido presentes em adjuntos cervejeiros e no próprio malte em açúcares mais simples como maltose e glicose.

As enzimas do malte de cevada são capazes de fermentar até 50% de adjunto amiláceo adicionado, além do amido presente no próprio grão de malte (D'AVILA, 2012).

A β -glucanase hidrolisa os beta-glucanos presentes no grão, melhorando a eficiência na etapa de filtração, aumentando a produtividade da planta (BIOBLOG, 2016). A adição de enzimas

comerciais como suplemento é necessária somente quando o percentual de adjuntos não-malteados for superior a 25%.

As proteases são enzimas que pertencem ao grupo das hidrolases, catalisam a reação de hidrólise de ligações peptídicas de proteínas e ainda ligações éster e amida, atuando na decomposição das proteínas. As proteínas já solubilizadas durante o processo de malteação continuam sendo degradadas, e as insolúveis serão degradadas pelas enzimas (BANDINELLI, 2015). Grande parte das enzimas não degradadas ainda são eliminadas com o bagaço de malte.

As proteases podem ser divididas em endo-peptidases, quebram longas cadeias de aminoácidos em sua parte central e as exo-peptidases, as quais quebram cadeias pelas extremidades, produzindo aminoácidos livres (BANDINELLI, 2015).

Já na etapa de fermentação e maturação, a utilização da enzima α -acetolactato descarboxilase apresenta algumas vantagens, como a redução do tempo de processo de fermentação, redução no custo de energia, manutenção da qualidade no produto final e otimização através de sazonalidade de produção (MARADYN, 2012).

Durante o processo de fermentação, diversas substâncias são formadas, além do etanol e gás carbônico, entre elas o diacetil, que pode trazer um sabor amanteigado desagradável a maior parte dos tipos cerveja, perceptível até em concentrações acima de 0,10 mg/L. Desta forma, a bebida deve alcançar níveis aceitáveis de diacetil para prosseguir no processo produtivo (SANTOS et al, 2016).

A enzima α -acetolactato descarboxilase atua como catalisador da conversão da α -acetolactato em acetoína, evitando a rota espontânea que passa por diacetil e a posterior redução pela redutase da levedura (MARADYN, 2012), como pode ser observado na Figura 2:

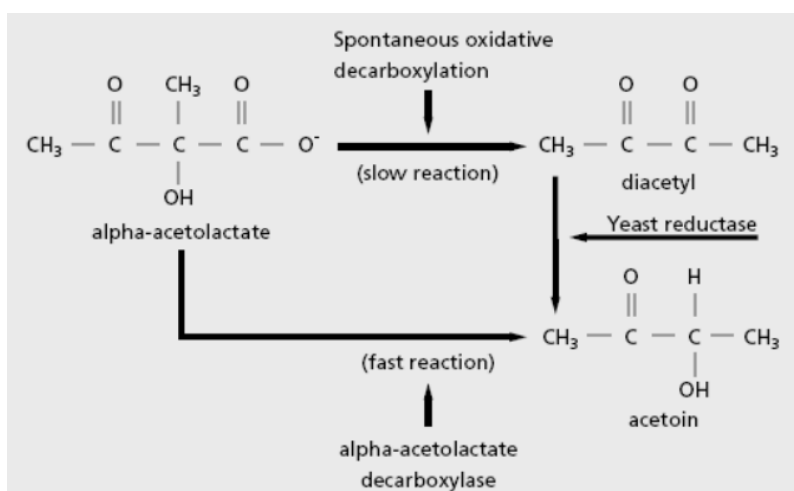


Figura 2 – Mecanismo de reação da conversão de alfa-acetolactate em acetoína (MARADYN, 2012)

As amiloglucosidases são utilizadas na produção de cervejas específicas, do tipo light ou leve, de baixo teor calórico ou de álcool. Ela pode teoricamente hidrolisar todo o amido, transformando-o em glicose (FUNÇÃO, 2008).

5. Mercado de enzimas no Brasil e no mundo

Em 2007, o mercado de enzimas era estimado em 2,3 bilhões de dólares anuais, com 60% deste valor correspondente a enzimas proteolíticas, sendo 40% de fontes microbianas, 35% pelas proteases. As amilases movimentam 30% do mercado mundial (CARVALHO et al, 2008). O mercado mundial pode ser dividido em três segmentos: enzimas técnicas, destinadas a indústria

têxtil e produtos de limpeza, enzimas para alimentos e bebidas e enzimas para ração animal (SOUZA, 2012).

Em 2011 este mercado movimentou 3,5 bilhões de dólares, sendo 1,3 bilhão em enzimas técnicas, 1 bilhão na indústria de alimentos e bebidas e 1,2 bilhão em demais segmentos (MORGADO, 2013).

Os Estados Unidos respondem por 34% do mercado de enzimas, com receita de US\$ 394 milhões em 2006 e estimativa de US\$ 749 milhões em 2013. Com os EUA, Europa Ocidental, Japão e Canadá dominam o mercado mundial (SOUZA, 2012).

O mercado brasileiro é essencialmente importador de enzimas industriais. No ano de 2011 as importações chegaram a US\$ 119 milhões e as exportações US\$ 52 milhões, segundo dados do Ministério de Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Ainda segundo o Ministério, de 2007 a 2011 as exportações brasileiras cresceram moderadamente, enquanto que as importações triplicaram, como pode ser visto no gráfico:

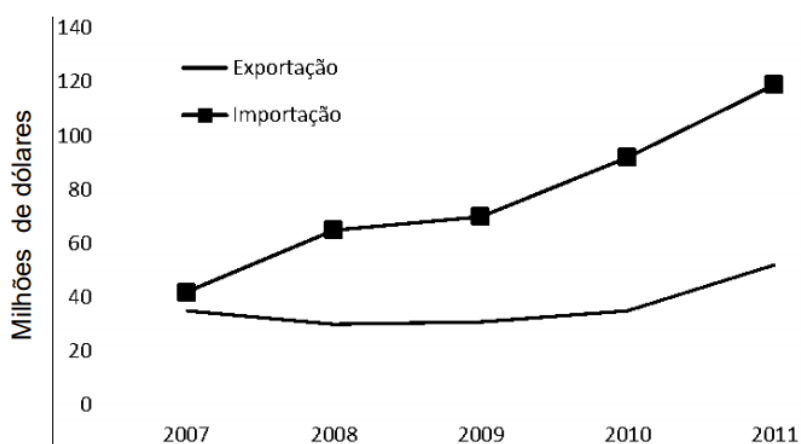


Gráfico 1 – Importações e exportações de enzimas no Brasil (MDIC, 2012)

O Brasil possui um enorme potencial para produção de enzimas devido a dois fatores: a abundância em matéria orgânica a ser utilizada como substrato de baixo custo para fermentações, como palha de arroz, soro de leite, bagaço de cana, e a enorme diversidade biológica, com a descoberta de novos microrganismos produtores de enzimas de interesse industrial (SOUZA, 2012).

As maiores produtoras mundiais são europeias: a holandesa Gist-Brocades, a finlandesa Genencor International e a dinamarquesa Novo Nordisk. A última detém sozinha cerca de metade do mercado mundial de enzimas, possui a marca comercial Novozymes S/A, com uma planta industrial no Brasil, situada em Araucária, região metropolitana de Curitiba.

7. A cidade de Ponta Grossa no cenário cervejeiro

A cidade de Ponta Grossa, na região dos Campos Gerais, situa-se no segundo planalto do estado do Paraná, distante 103 quilômetros da capital Curitiba, com população estimada em 341.130 habitantes pelo IBGE em novembro de 2016, quarta maior população do Paraná, destaca-se entre os demais municípios devido a sua posição geográfica, com o principal entroncamento rododiferroviário do sul do país. Possui também o maior polo industrial do interior do estado, além de infraestrutura com energia elétrica, água e gás natural. (PMPG, 2017)

A indústria cervejeira é em grande parte responsável pelo desenvolvimento industrial da região. A primeira cervejaria da cidade foi a Cervejaria Oceana, fundada por Friedrich Wilhelm

Metzenthin em 1892 na rua Augusto Ribas, a qual encerrou as atividades em 1920. (COUTINHO, 2017)

Porém foi em 1894 com a inauguração de uma filial da Cervejaria Grossel na atual Av Vicente Machado que a industrialização chegou na cidade. Posteriormente denominada Cervejaria Henrique Thielen, nome de seu fundador, e Cervejaria Adriática, foi a primeira empresa a instalar um motor elétrico em Ponta Grossa, no ano de 1911 (SILVA, 1993). Neste mesmo ano, com novas instalações e equipamentos vindos da Alemanha, a fábrica tinha capacidade de produção de 30.000 hL/ano, além de subprodutos como gelo, minerais e malte (MOSS e MASCARENHAS, 2014).

Adquirida pela Companhia Antarctica de Bebidas Paulista em 1945, a fábrica produziu cervejas comercializadas em todo o país, como a Original e a Adriática, até encerrar as atividades na cidade em 1993 (COUTINHO, 2017).

Em 1996 é inaugurada na cidade uma unidade da Cervejaria Kaiser, posteriormente controlada pela FEMSA e hoje pela Heineken Brasil, produzindo marcas globais, como Heineken, Amstel e Sol Premium, além de abastecer o mercado nacional, com capacidade de produção de 4,6 milhões de litros anuais em 2016 (BOUÇAS, 2016).

Em 2015 a Companhia Ambev iniciou a operação de uma nova fábrica em Ponta Grossa, também com capacidade de 4,6 milhões de litros anuais, produzindo marcas globais como Budweiser, além de marcas nacionais e a volta da produção das marcas Original e Adriática na cidade (BOUÇAS, 2015).

Além das grandes indústrias, a cidade ainda possui seis fábricas de produtores artesanais: Koch Bier, Oak Beer, Palais, Tropeiro, Brauerei Schultz e Ade Bier, as quais juntas produzem em média 50 mil litros de cerveja mensalmente.

7. Considerações Finais

As enzimas são utilizadas pelo homem a milênios, porém o conhecimento científico de suas propriedades ocorre a menos de dois séculos. A alta especificidade faz com que as enzimas sejam necessárias e primordiais em alguns processos químicos, sejam como catalisadoras, reduzindo tempo e custo de processo, e idealizando parâmetros como temperatura e pH do meio.

Enzimas podem ser obtidas de extratos animais e vegetais, porém a produção microbiana através da fermentação tem grande potencial devido à alta produção com baixo custo comparando com os demais métodos.

O mercado de cervejas está em constante expansão e seu processo está sempre passando por atualizações e inovações tecnológicas. Neste sentido, o estudo e aplicação de enzimas de alta performance é essencial para obter ganhos em situações como aumento do rendimento e eficiência do processo, redução de custos, tratamento de efluentes, redução do consumo de água, entre outros.

A cidade de Ponta Grossa se destaca no cenário cervejeiro há mais de 120 anos. Além da produção em industrial larga escala, as cervejarias artesanais possuem um público fiel e exigente em questões como qualidade e sabores diferenciados e exclusivos.

O Brasil tem grande potencial de crescimento no que se refere a produção de enzimas, devido à grande quantidade e variedade de microrganismos e substratos presentes no país. A pesquisa acadêmica pode ser o primeiro passo para viabilizar métodos de produção em larga escala entre os vários tipos de enzimas.

Referências

- BANDINELLI, P. C.** *Estudo de caso de melhoria do Processo de Mosturação de uma cerveja no RS*. Porto Alegre: UFRGS, 2015.
- BAUERMEISTER, A.; REZENDE, M. I.; GIESE, E. C.; DEKKER, R. F. H.; BARBOSA, A. M.** *β -1,3-Glucanases Fúngicas: produção e aplicações biotecnológicas*. Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas, Londrina, v. 31, n. 2, p. 75-86, 2010.
- BOUÇAS, C.** *Ambev dá início à operação em fábrica de Ponta Grossa, no Paraná*. Valor Econômico. São Paulo, 03 nov. 2015. Disponível em: <<<http://www.valor.com.br/empresas/4298658/amb-ev-da-inicio-operacao-em-fabrica-de-ponto-grossa-no-parana>>> Acessos em 06/08/2017
- BOUÇAS, C.** *Heineken amplia fábrica no PR e produzirá no Brasil cerveja em barril*. Valor Econômico. São Paulo, 03 ago. 2016. Disponível em: <<<http://www.valor.com.br/empresas/4657555/heineken-amplia-fabrica-no-pr-e-produzira-no-brasil-cerveja-em-barril>>> Acessos em 06/08/2017
- CARVALHO, R. V.; CORRÊA, T. L. R.; SILVA, J. C. M.; VIANA, A. P.; MARTINS, M. L. L.** *Otimização das condições de cultivo para a produção de amilases por *Bacillus* sp. e hidrólise enzimática de amidos*. Ciência e Tecnologia de Alimentos. V. 28, n. 2, p. 380-386, 2008.
- CARVALHO, R. V.** *Produção e caracterização de α -amilase por *Bacillus* sp. Smia-2 termofílico utilizando proteínas de soro de leite, e algumas aplicações da enzima*. Campos dos Goytacazes: UENF, 2007.
- COELHO, M. A. Z.; SALGADO, A. M.; RIBEIRO, B. D.** *Tecnologia Enzimática*. Rio de Janeiro: Editora EPUB, 2008.
- COUTINHO, C.A.T.** *A história da cerveja no Brasil*. Portal Cervesia. Disponível em: <<<https://www.cervesia.com.br/historia-da-cerveja/>>> Acessos em 05/07/2017.
- D'AVILA, R. F.; LUVIELMO, M. M.; MENDONÇA, C. R. B.; JANTZEN, M. M.** *Adjuntos utilizados para produção de cerveja: características e aplicações*. Estudos Tecnológicos em Engenharia, v. 8, n. 2, p. 60-68, 2012.
- Função e Aplicação das enzimas na indústria alimentícia*. Revista Aditivos e Ingredientes, n. 58. São Paulo: Editora Insumos, 2008.
- GIESE, E. C.** *Produção de beta-glucanase por *Trichoderma Harzianum* Rifai para obtenção de oligossacarídeos a partir de botriosferana*. São José do Rio Preto: UNESP, 2008.
- LEHNINGER, A. L.; COX, M. M.; NELSON, D. L.** *Princípios de Bioquímica*. 725 p. São Paulo: Sarvier, 1985.
- MARADYN, D. J.** *Enzymes use in Beverage Production*. Novozymes North America Appstate. Disponível em: <<http://wine.appstate.edu/sites/wine.appstate.edu/files/Enzyme%20Use%20in%20Beverage%20Production.pdf>> Acessos em 17/07/2017. Nova Iorque: 2012.
- MATHIAS, T. R. S.; MELLO, P. P. M.; SERVULO, E. F. C.** *Caracterização de resíduos cervejeiros*. Anais XX COBEQ. Florianópolis, 2014.
- MDIC - MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA E COMÉRCIO EXTERIOR.** *Diagnóstico de referência sobre serviços de escalonamento de biotecnologias no Brasil*. Rio de Janeiro: Fundação Bio-Rio, 2012. 50p.
- MONTEIRO, V. N.; SILVA, R. N.** *Aplicações industriais da biotecnologia enzimática*. Revista Processos Químicos, v. 3, n. 5, p.9-23, 2009.
- MORGADO, H. S.** *Produção e caracterização de amilase do fungo *Aspergillus awamori* e sua utilização em dietas para frangos de corte*. Goiânia: UFG, 2013.
- MOSS, O.F.; MASCARENHAS, R.G.T.** *Potencial turístico cervejeiro na região dos Campos Gerais: um levantamento preliminar*. VIII Fórum Internacional de turismo do Iguassu. Foz do Iguaçu, 2014.
- ORLANDELLI, R. C.; SPECIAN, V.; FELBER, A. C.; PAMPHILE, J. A.** *Enzimas de interesse industrial: produção por fungos e aplicações*. SaBios: Revista Saúde e Biologia, v.7, n.3, p.97-109, 2012.
- PMPG.** Prefeitura Municipal de Ponta Grossa. A Cidade. Disponível em <<<http://www.pontagrossa.pr.gov.br/acidade>>> Acessos em 15/08/2017

Portal Bioglog. *As enzimas e o processo cervejeiro.* Portal Bioblog Novozymes. Disponível em <
<http://www.bioblog.com.br/as-enzimas-e-o-processo-cervejeiro/>> Acessos em 15/07/2017. Araucária, 2016.

SANTOS, K. P.; SOARES, M. V. L.; GONÇALVES, R. M. J.; PESSELA, B.; MELO, V. M. M.; GONÇALVES, L. R. B. *Produção da enzima alfa-acetolactato descarboxilase por fermentação microbiana: análise da eficiência de etapas de pré-purificação do extrato enzimático.* Anais XXI COBEQ: Fortaleza, 2016.

SILVA, E.A. *Energia elétrica e desenvolvimento industrial em Ponta Grossa 1904 – 1973.* 1993. 204 f. Dissertação (Mestrado em História). Setor de Ciências Humanas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1993.

SILVA, H.A.; LEITE, M.A.; PAULA, A.R.V. *Cerveja e sociedade.* Revista de Comportamento, Cultura e Sociedade. São Paulo, v. 4, n. 2, mar. 2016.

SOUZA, E. F. *Aplicação de proteases e amilases produzidas por Bacillus sp. Smia-2 na remoção de manchas de tecidos.* Campos dos Goytacazes: UENF, 2012.