



## **Fermentadores de baixo custo para ensaios de fermentação cervejeira em escala laboratorial**

Low-cost fermenters for laboratory-scale beer fermentation experiments

Tallis Vinícius Araújo da Silva  
Universidade Federal de Alfenas/BR

Bruno Martins Dala Paula  
Universidade Federal de Minas Gerais/BR

Gabriel Gerber Hornink  
Universidade Federal de Alfenas/BR

### **Resumo**

A inovação é fundamental para o crescimento do setor cervejeiro, e o aprimoramento de testes em pequena escala pode acelerar o desenvolvimento científico-tecnológico. Este estudo tem como objetivo construir e validar um sistema de pico-fermentadores (PC) para pesquisas acadêmicas com mosto cervejeiro. Os PC, com capacidade de até 35 ml de mosto, foram produzidos a partir de tubos Falcon de 50 ml adaptados com sondas de silicone para amostragem e emissão de gases. O sistema apresenta baixo custo, fácil montagem e permite a execução de múltiplos ensaios em paralelo. A validação foi realizada comparando-se fermentações conduzidas nos PC e em volumes convencionais, analisando pH, gravidade específica, compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante (ABTS, DPPH). Os resultados mostraram elevada similaridade estatística entre os métodos, confirmando a aplicabilidade dos PC para estudos de fermentação, ampliando a variedade de testes e repetições, com melhor aproveitamento de tempo e recursos.

**Palavras-chave:** cerveja; fermentação; pico-fermentadores; escala reduzida.

### **Abstract**

Innovation is fundamental to the growth of the brewing industry, and the improvement of small-scale testing can accelerate scientific and technological development. This study aimed to build and validate a system of pico-fermenters (PC) for academic research with beer wort. The PFs, with a capacity of up to 35 ml of wort, were produced from 50 ml Falcon tubes adapted with silicone probes for sampling and gas emission. The system is low cost, easy to assemble, and allows multiple tests to be performed in parallel. Validation was performed by comparing fermentations conducted in PCs and in conventional volumes, analyzing pH, specific gravity, phenolic compounds, flavonoids, and antioxidant activity (ABTS, DPPH). The results showed high statistical similarity between the methods, confirming the applicability of PCs for fermentation studies, expanding the variety of tests and repetitions, with better use of time and resources.

**Keywords:** beer; fermentation; pieak-fermenters; small scale.

## I. INTRODUÇÃO

Em um contexto global, no qual a inovação tecnológica é um pilar central para o crescimento da indústria cervejeira, a fermentação etanólica na produção cervejeira emerge como um processo crítico, demandando atenção e aprimoramento constantes (Cabras; Bamforth, 2016). Durante este processo, leveduras cervejeiras, geralmente do gênero *Saccharomyces*, consomem açúcares fermentescíveis e produzem subprodutos como álcool, dióxido de carbono e diversos compostos que influenciam sabor e aroma (Boulton *et al.*, 2001). Parâmetros como a gravidade específica e o pH, que sofrem variações ao longo da fermentação, são indicadores valiosos de seu progresso (Briggs *et al.*, 2004).

Neste cenário, o uso de sistemas fermentativos em pequena escala (tubos Falcon de 50 ml), aqui chamados de "pico-fermentadores" (PFs), oferece uma série de benefícios tanto para a pesquisa acadêmica como para a indústria cervejeira. Inicialmente, os PFs possibilitam um desenvolvimento mais ágil e econômico de novas cervejas ao permitir testes em ambiente controlado sem o compromisso financeiro de grandes volumes de produção (Vriesekoop *et al.*, 2017). Além disso, esses sistemas favorecem a execução de múltiplos testes em paralelo, o que acelera a investigação de variáveis como cepas de levedura, temperaturas e tempos de fermentação (Kunze, 2016).

Mais ainda, a validação em pequena escala facilita a transição para plantas piloto e, posteriormente, para a produção em escala industrial (Bamforth; Ward, 2014). Os PFs também podem contribuir para o controle de qualidade, atuando como etapa intermediária para validar a consistência e as propriedades do produto (Boulton *et al.*, 2001). Assim, a validação do sistema proposto neste trabalho representa uma ferramenta indispensável para a otimização de processos, economia de recursos e melhoria da qualidade, atendendo aos objetivos tanto da pesquisa quanto da indústria cervejeira.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O metabolismo celular compreende duas áreas essenciais: catabolismo e anabolismo. O catabolismo envolve a degradação de moléculas orgânicas, como carboidratos, com produção de energia na forma de ATP por meio de reações de oxidação dessas moléculas. Essa energia é utilizada no anabolismo em reações fundamentais ao crescimento e multiplicação celular, empregando os produtos intermediários de carbono e nutrientes diversos produzidos na etapa



*Fermentadores de baixo custo para ensaios de fermentação cervejeira em escala laboratorial* anterior. A energia obtida a partir do ATP impulsiona processos como transporte ativo, anabolismo e produção de calor (Briggs *et al.*, 2011; Marzzoco; Torres, 2015; Brink *et al.*, 2008). No contexto da produção cervejeira, esse metabolismo está intimamente ligado ao desempenho fermentativo das leveduras.

Para obter ATP, as leveduras cervejeiras, do gênero *Saccharomyces*, iniciam a oxidação da glicose na glicólise, no citosol, até a formação de piruvato, o qual poderá ser usado em: via aeróbia, no interior da mitocôndria, com a formação de acetil-CoA, ciclo de Krebs e cadeia de transporte de elétrons, onde ocorre a fosforilação oxidativa para formação de ATP; via anaeróbia, na qual a levedura converte o piruvato em acetaldeído e, por fim, em etanol com fins de oxidar o NADH, regenerando o NAD<sup>+</sup> que poderá ser reutilizado na glicólise (Marzzoco; Torres, 2015; Brink *et al.*, 2008). Para fins cervejeiros, o foco reside no metabolismo fermentativo das leveduras, que além do etanol e CO<sub>2</sub> será responsável por diversos aromas e sabores na cerveja (Hornink, 2024; Muxel, 2022).

A fermentação pode ser acompanhada a partir de diversos parâmetros, destacando o pH e a gravidade específica (SG), uma vez que estes estão relacionados diretamente com a atividade fermentativa da levedura. À medida que a fermentação ocorre, tem-se a acidificação do mosto (redução do pH) e o consumo dos açúcares fermentescíveis, reduzindo-se a SG (Hornink, 2024; Muxel, 2022). Esses parâmetros são amplamente utilizados para monitorar a cinética fermentativa, motivo pelo qual foram selecionados neste estudo.

A quantidade de açúcares do mosto que será utilizada pelo metabolismo da levedura durante a fermentação é denominada grau de atenuação aparente (AA), podendo ser calculada a partir da gravidade específica original (OG) e da gravidade final da fermentação (FG). A OG é a medida de concentração em termos de peso/peso de gramas de sólidos em cem gramas de mosto antes da fermentação e pode ser expressa em °P (Plato). A gravidade final é representada pelo mosto após completada a fermentação, de modo que a adição de mais levedura ou o mantimento das condições de fermentação não altere a gravidade (Briggs *et al.*, 2011; Hornink; Galembeck; Muxel, 2024).

Além dessas variáveis, outras podem ser acompanhadas com fins de se compreender o impacto da fermentação em parâmetros específicos, sendo aqueles relacionados ao potencial antioxidante de grande interesse, destacando-se a concentração total de flavonoides e polifenóis, além do próprio potencial antioxidantes (métodos como DPPH e ABTS). Com isso, possibilita-se compreender aspectos de compostos bioativos presentes nas cervejas, em especial nas cervejas artesanais, uma vez que são relevantes para a estabilidade da cerveja, saúde, além

*Tallis Vinícius Araújo da Silva; Bruno Martins Dala Paula; Gabriel Gerber Hornink*

do apelo mercadológico (Bueno *et al.* 2021)

Nesse contexto, a possibilidade de reproduzir experimentos com alta reprodutibilidade e precisão torna importante o uso de sistemas para ensaios em pequena escala, o que permite um número grande de testes em simultâneo e com baixo custo. A ideia de testar em pequena escala, como apresentado por Zhao, Kerspes e Becker (2022), que avaliaram o uso de placa de microtitulação como plataforma de triagem de alto rendimento para fermentação de cerveja, contribui para acelerar o desenvolvimento de novos produtos e cepas e, conseqüentemente, a inovação no setor cervejeiro. Assim, sistemas de fermentação miniaturizados representam ferramentas estratégicas para inovação e P&D em cervejarias e laboratórios acadêmicos (Krogerus *et al.*, 2021).

Há no mercado diversas opções de biorreatores de bancada em pequena escala, com volumes variados, desde centenas de mililitros até vários litros), frequentemente com um ou mais biorreatores em paralelo (por exemplo, há modelos com 12 sistemas em paralelo), conectados em sistemas para alimentação dos sistemas e monitoramento automático de diversas variáveis, como pH, oxigênio dissolvido, temperatura (Weuster-Botz *et al.*, 2005; Bareither; Pollard, 2011). Entretanto, esses sistemas apresentam um custo relativamente alto, além de diversos deles demandarem espaço considerável no laboratório, o que limita a realização de muitos ensaios em simultâneo (Sawatzki *et al.*, 2018).

Nesse sentido, a miniaturização dos fermentadores e redução dos custos traz vantagens para testes preliminares, nos quais se pretende triar as melhores opções dentro de um número alto de possibilidades (Weuster-Botz *et al.*, 2005). Em síntese, essa miniaturização reduz o consumo de mosto, lúpulo, levedura e demais insumos, demanda menor espaço físico, permite maior número de repetições e diminui o custo experimental, sendo esta a proposta deste trabalho (Zhao; Kerspes; Becker, 2022). Em contrapartida, tem-se menos tecnologias para monitorar em tempo real as condições da fermentação, ainda assim, as vantagens citadas são interessantes para os testes preliminares e triagens, superando essas limitações (Bareither; Pollard, 2011).

Esses sistemas miniaturizados podem ser usados em diversas aplicações fermentativas, como em testes de viabilidade, taxa de inoculação, enzimáticos, controle de oxigênio, temperatura, formação de espuma, adição de frutas, fermentação consorciada etc. Neste trabalho, o sistema proposto dos pico-fermentadores foi aplicado especificamente à fermentação de mosto cervejeiro, com monitoramento de variáveis físico-químicas e de



*Fermentadores de baixo custo para ensaios de fermentação cervejeira em escala laboratorial*  
compostos bioativos.

### 3. MÉTODO

Para a validação da montagem, procedeu-se a fermentação em paralelo dos PFs e baldes de variados tamanhos, sendo que se acompanhou o consumo de açúcares partir da gravidade específica (SG) e, após fermentação, fez-se a mensuração do pH e algumas variáveis relacionadas ao poder antioxidante (PO) da bebida, uma vez que há interesse em utilizar os PFs em produções que maximizem o PO.

#### 3.1 Montagem do sistema

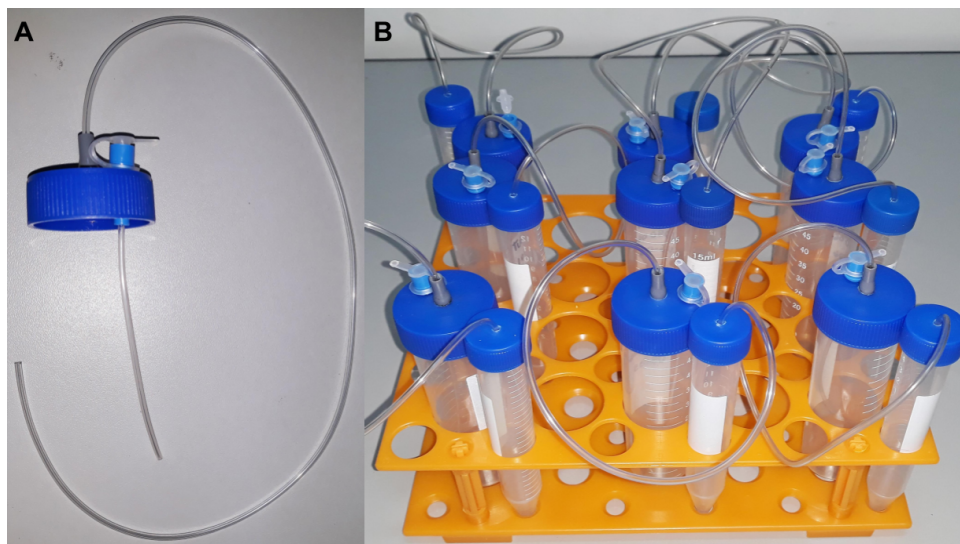
Para realização dos testes laboratoriais envolvendo a produção de cerveja, fez-se a montagem dos pico-fermentadores usando tubos Falcon de 50 ml (35 ml volume útil de fermentação) e duas sondas uretrais para cada pico-fermentador. O uso das sondas se caracterizou como um material alternativo e de baixo custo.

Cada sistema foi equipado com duas sondas uretrais: uma para exaustão de CO<sub>2</sub> e outra para coleta de amostras de mosto. A exaustão de CO<sub>2</sub> foi feita por uma sonda inserida em um tubo Falcon de 15 ml contendo etanol (*blow-off*), impedindo a contaminação do sistema e retorno do ar atmosférico (Figura 1). Desta forma, em uma estante de tubos Falcon é possível inserir um tubo para o *blow-off* por fermentador (Figura 1), em um conjunto de 9 PFs, ou pode-se utilizar um ou dois tubos Falcon de 50 ml para inserção dos *blow-offs*, desta forma, viabilizando de 18 a 19 PFs em simultâneo (Figura 2).

O sistema é montado de forma que é permitida a retirada de pequenas amostras (1 ml) com pipeta, já que a segunda sonda é inserida com a mangueira para dentro do tubo Falcon (7,5 cm de comprimento) em contato com o mosto, mas com distância do fundo para não coletar os sedimentos da fermentação. Essa sonda permanece fechada e só é aberta por um curto período de tempo para a retirada de amostras, diminuindo a chance de contaminação durante o processo de acompanhamento das etapas e da mensuração da SG.

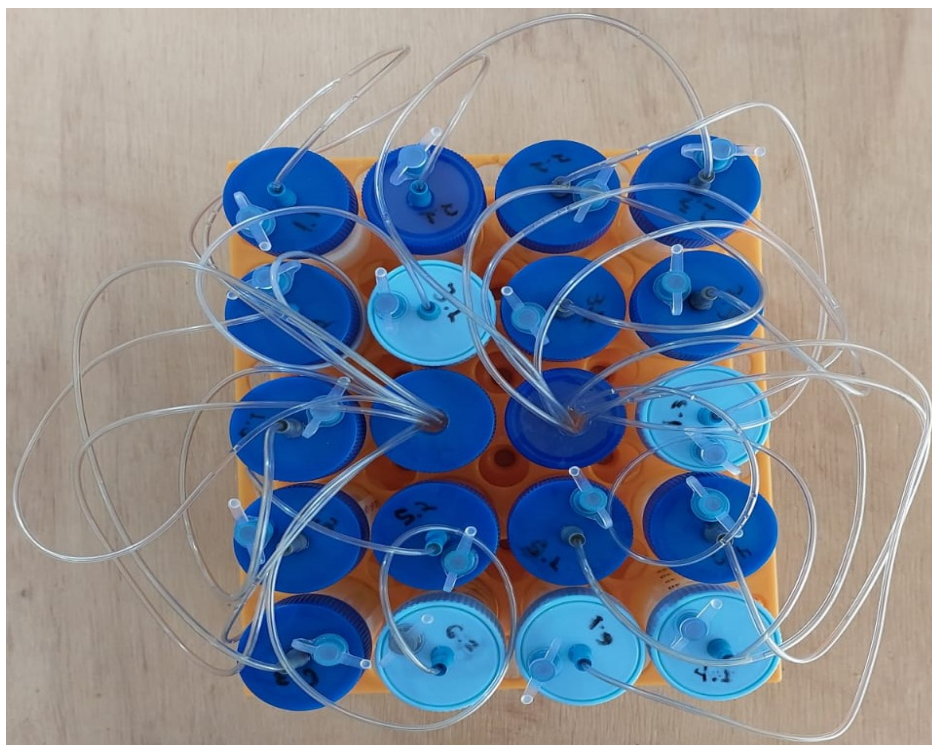
*Tallis Vinicius Araújo da Silva; Bruno Martins Dala Paula; Gabriel Gerber Hornink*

Figura 1 – Montagem dos pico-fermentadores em uma estante com 9 sistemas de fermentação



Fonte: Dados da pesquisa

Figura 2 – Pico-fermentadores contendo 6 tratamentos diferentes, com 3 repetições cada



Fonte: Dados da pesquisa.

### **3.2 Validação do sistema de pico-fermentadores**

Validou-se o sistema de pico-fermentadores com relação a algumas variáveis da produção (SG, pH, total antioxidantes: ABTS e DPPH, total flavonoides e fenólicos totais), em comparação com a produção em baldes de 3, 20 e 30 l. Assim, a metodologia do estudo em questão consiste em comparar, estatisticamente, o nível de semelhança das variáveis resultantes dos pico-fermentadores em comparação às variáveis resultantes dos baldes.

Realizaram-se três etapas: na primeira, comparou-se os valores de decréscimo da SG ao longo dos dias de fermentação e o pH, inicial e final, de um balde de 20 e um de 30 l com os pico-fermentadores. A segunda etapa comparou os valores de SG e as quantidades de compostos antioxidantes dos PFs e dois baldes diferentes de 3 l (A e B). Para finalizar, na terceira etapa, analisou-se o decréscimo da SG, o pH e as quantidades de compostos antioxidantes nos PFs, no balde de 20 l e em baldes de 3 l. Todos os tratamentos foram acompanhados com a triplicata dos pico-fermentadores, além do mantimento do sistema em mesma condição térmica que os baldes.

Ao fim da fermentação, após mensuração dos valores de pH e SG das amostras, transferiu-se a cerveja dos pico-fermentadores para novos tubos Falcons, assim como recolheram-se amostras dos baldes. Todas as amostras passaram por degaseificação em banho de ultrassom por 30 minutos para seguir com a análise dos antioxidantes, no caso da segunda e terceira batelada, em que houve a análise de compostos antioxidantes.

### **3.3 Produção da cerveja**

O protocolo de produção cervejeira seguiu as diretrizes estabelecidas por Briggs *et al.* (2004), Kunze (2004) e Hornink (2024), sendo receitas *all-grain* no padrão *pale ale*.

As leveduras comerciais secas foram hidratadas na proporção de 10 ml de água filtrada para cada 1 g de fermento seco. Para tanto, polvilhou-se o fermento sobre a água, sem agitação, mantendo-o em repouso por 10 minutos, por posterior agitação suave e novo repouso de 5 minutos.

Previamente à fermentação, durante e ao fim da fermentação, mensurou-se a SG utilizando um refratômetro de luz digital, para efeito de comparação entre as amostras, assim como para controle da qualidade da bebida.

A atenuação aparente foi calculada conforme a fórmula:  $Atenuação\ aparente(\%) = \frac{OG - FG}{OG - 1} \times 100$ , sendo OG a gravidade específica original e FG a gravidade específica final.

*Tallis Vinícius Araújo da Silva; Bruno Martins Dala Paula; Gabriel Gerber Hornink*

O potencial antioxidante foi avaliado com os métodos ABTS e DPPH, enquanto o teor de compostos fenólicos foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu (Wang *et al.*, 2021).

### **3.4 Método de captura do radical ABTS•**

Determinou-se o potencial antioxidante a partir do método espectrofotométrico de descoloração do radical catiônico ABTS•<sup>+</sup> (2,2'-azinobis(3-etilbenzoatiazolina-6-ácidosulfônico), obtido a partir de sua neutralização com compostos antioxidantes presentes nas amostras (Wang *et al.*, 2021). Preparou-se a solução de ABTS•<sup>+</sup> misturando 7 mm de solução aquosa de ABTS com 2,45 mm de solução de persulfato de potássio, seguindo pela incubação no escuro em temperatura ambiente, por 12 h. Diluiu-se a solução resultante até obtenção de absorvância igual a  $0,7 \pm 0,2$ , determinada em espectrofotômetro, ajustado em comprimento de onda de 734 nm. Quantificou-se a diferença de cor entre as leituras da solução completamente colorida, considerada a solução de 100% de radicais livres ABTS•<sup>+</sup> (750 µL de ABTS•<sup>+</sup> + 250 µL de solução de álcool etílico a 70% v/v) e da leitura da solução de radicais ABTS•<sup>+</sup> contendo a amostra (750 µL de ABTS•<sup>+</sup> + 250 µL de amostra) em espectrofotômetro com leituras realizadas a 734 nm. Comparou-se os resultados com uma curva analítica construída com sete pontos de diferentes concentrações de solução padrão do antioxidante Trolox.

### **3.5 Método de captura do radical DPPH•**

Quantificou-se a atividade de captura do radical DPPH• conforme metodologia descrita por Wang *et al.* (2021), com modificações, utilizando Trolox como padrão. Misturou-se uma alíquota de 500 µL da amostra, após diluição adequada com 500 µL de 0,15 mM de solução de DPPH•, sendo manualmente homogeneizados e mantidos no escuro, em temperatura ambiente, por 30 minutos. Mediu-se a absorvância em espectrofotômetro ajustado a 517 nm e calculou a partir da equação da reta obtida por meio de uma curva de quantificação de sete pontos, considerando diferentes concentrações do padrão de Trolox (20-100 µg/ml) e a taxa de eliminação do radical DPPH•. Utilizou-se a solução de etanol (70% v/v) como controle negativo.

### **3.6 Determinação dos compostos fenólicos totais e de flavonoides totais**

Determinou-se o teor de compostos fenólicos totais das amostras, conforme método descrito por Wang *et al.* (2021), com modificações, expressos em µg equivalente de ácido gálico (GAE)/g. Adicionou-se a alíquota de 160 µL da amostra adequadamente diluída em um



*Fermentadores de baixo custo para ensaios de fermentação cervejeira em escala laboratorial*

tubo de ensaio, misturando com 80  $\mu\text{L}$  de 0,5 M de reagente de *Folin-Ciocalteu* e mantendo em temperatura ambiente, por 5 min. Adicionou-se um volume de 640  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (7,5% p/v) e incubou, ao abrigo da luz, em temperatura ambiente, por 30 min. Mensurou-se a absorvância a 756 nm, em espectrofotômetro. Quantificou-se os resultados a partir da equação da reta obtida por meio de uma curva padrão construída com sete pontos, com diferentes concentrações de padrão de ácido gálico (10-100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ).

Para a determinação dos teores de flavonoides totais das amostras, misturou-se um volume de 40  $\mu\text{L}$  de amostra adequadamente diluída com 20  $\mu\text{L}$  solução de  $\text{NaNO}_2$  (3% p/v) e manteve por 6 minutos. Adicionou-se um volume de 20  $\mu\text{L}$  de solução de  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  (6% p/v) e manteve a mistura em repouso por 6 minutos para completar reação, seguindo da adição de 140  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaOH}$  (4% p/v) e então, adicionou-se 60  $\mu\text{L}$  de solução de etanólica (70% v/v). Incubou-se a mistura em temperatura ambiente por 15 minutos e determinou-se a absorvância por meio de um espectrofotômetro, com comprimento de onda ajustado em 510 nm. Construiu-se uma curva padrão de catequina e utilizou-a para a quantificação dos teores de flavonoides totais que serão expressos em equivalentes de catequinas/g de amostra.

### 3.7 Análise estatística

As premissas da análise de variância foram verificadas, necessárias para que os dados se encaixassem em um modelo de teste paramétrico, utilizando o teste de Durbin-Watson (Zeileis; Hothorn, 2002) para verificar a independência dos erros de cada observação, o teste de Shapiro-Wilk (Ferreira; Cavalcanti; Nogueira, 2021) para a distribuição normal dos resíduos e o teste de Bartlett (Ferreira; Cavalcanti; Nogueira, 2021) para a homogeneidade da variância dos erros. Todos esses testes adotam um nível de significância de 5%; se o valor P for inferior em qualquer um dos testes, os dados violam a suposição (Sheskin, 2011).

Em caso de violação das premissas da ANOVA, os dados foram corrigidos utilizando o teste de Box-Cox (Venables; Ripley, 2002), para transformação de modelos lineares, que determina o expoente que acompanha a variável resposta, de modo que os dados não violem as hipóteses da análise de variância ao realizar os testes novamente (Sheskin, 2011).

A análise de variância dos dados (ANOVA) foi realizada de acordo com um delineamento em blocos casualizados e completamente aleatório para as metodologias, ao nível de significância de 5%. No caso de diferença significativa  $P < 0,05$ , para dados paramétricos, utilizou-se o teste de Tukey (Ferreira; Cavalcanti; Nogueira, 2021) para analisar e comparar as médias dos tratamentos, entretanto, se os dados apresentarem  $P > 0,05$ , podem ser considerados estatisticamente iguais (Sheskin, 2011).

*Tallis Vinícius Araújo da Silva; Bruno Martins Dala Paula; Gabriel Gerber Hornink*

Os dados que violam a suposição (dados não paramétricos), mesmo com a transformação, foram analisados utilizando o teste de Kruskal-Wallis (Mendiburu, 2021), para verificar se existem diferenças significativas entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ) e o teste de Dunn (Kassambara, 2023), para analisar a diferença entre a variância dos tratamentos, se houver (Sheskin, 2011). Todo o procedimento de análise de dados foi feito através do software R (R Core Team, 2023).

#### 4. ANÁLISE E RESULTADOS

Na busca por inovações no processo de produção cervejeira, torna-se imperativo avaliar e validar equipamentos que possam otimizar a fase crucial da fermentação, desempenhando um papel fundamental na condução de pesquisas e experimentações nesse campo. Neste contexto, para a validação dos pico-fermentadores é necessária semelhança estatística das análises feitas entre os baldes e o sistema, das variáveis da fermentação (pH, SG) e do potencial antioxidante.

Com relação à comparação do decaimento da gravidade específica (SG) entre os Pico-fermentadores e o balde, não se constatou diferença estatística significativa na segunda batelada (Tabela 2), já na primeira, mesmo com  $P < 0,05$  em ambos os tratamentos (B 20 L e B 30 L), a análise de médias (B 20 L) e das medianas (B 30 L) considerou estatisticamente igual ao balde e os PFs (Tabela 1; Tabela 3).

Tabela 1 – Análise de variância das bateladas 1, 2 e 3, dos dados paramétricos considerados estatisticamente diferentes

Variável Avaliada	Valor P	Teste de Tukey		
		Tratamentos	Grupos	Médias
<b>1ª Batelada "B 20 L"</b>				
SG	0,048	Balde	a	1,0173
		MPF	a	1,0169
pH	0,00032	Balde	a	4,69
		MPF	b	4,44
<b>"B 30 L"</b>				
pH	1,47E-06	Balde	a	4,59
		PF	b	4,42
<b>2ª Batelada "A"</b>				
Flavonoides	0,0011	Balde	a	0,067
		MPF	b	0,063
<b>"B"</b>				
DPPH	0,0002	Balde	a	0,306
		MPF	b	0,264
Fenólicos	0,000027	Balde	a	0,105
		MPF	b	0,098



*Fermentadores de baixo custo para ensaios de fermentação cervejeira em escala laboratorial*

3º Batelada "A"					
Fenólicos	0,028	Balde	a	0,41	
		MPF	b	0,36	
"C"					
SG	0,0012	Balde	a	1,0128	
		MPF	b	1,0118	
"D"					
SG	9,3E-06	Balde	a	1,0093	
		MPF	b	1,0083	
"F"					
Fenólicos	0,01	Balde	a	0,41	
		MPF	b	0,37	

Legenda. MPF: média dos Pico-fermentadores

Fonte: Dados da pesquisa

Tabela 2 – Análise de variância dos dados paramétricos e não paramétricos considerados estatisticamente iguais

Variável Avaliada	Dados Paramétricos		Variável Avaliada	Dados Não Paramétricos		Variável Avaliada
	Valor P	Valor P		Teste de Friedman Valor P	Teste de Kruskal-Wallis Valor P	
2º Batelada						
<b>A</b>			<b>B</b>	—	—	—
SG	0,929	0,453	SG	—	—	—
ABTS	0,32	0,54	ABTS	—	—	—
DPPH	0,68	0,12	Flavonoides	—	—	—
3º Batelada						
<b>A</b>			<b>D</b>		<b>A</b>	
pH	0,104	0,104	pH	—	0,34	Flavonoides
ABTS	0,66		ABTS	—	<b>B</b>	DPPH
DPPH	0,11	0,9		0,14	—	SG
<b>B</b>			<b>E</b>		<b>C</b>	
pH	0,104	0,104	pH	—	0,81	DPPH
ABTS	0,86	0,73	DPPH	—	<b>D</b>	
Flavonoides	0,17		Flavonoides	—	0,14	Flavonoides
Fenólicos	0,57	0,097		—	0,78	DPPH
<b>C</b>			<b>F</b>		1	Fenólicos
pH	0,104	0,104	pH	—	<b>E</b>	
ABTS	0,3		ABTS	—	0,30	Flavonoides
Flavonoides	0,64	0,39	DPPH	—	0,79	ABTS
Fenólicos	0,2	0,09	Flavonoides	—		
		0,17				

Legenda. Pfl: Pico-fermentador 1; Pico-fermentador 3

Fonte: Dados da pesquisa

Tallis Vinicius Araújo da Silva; Bruno Martins Dala Paula; Gabriel Gerber Hornink

Tabela 3 – Análise de variância dos dados não paramétricos considerados estatisticamente diferentes

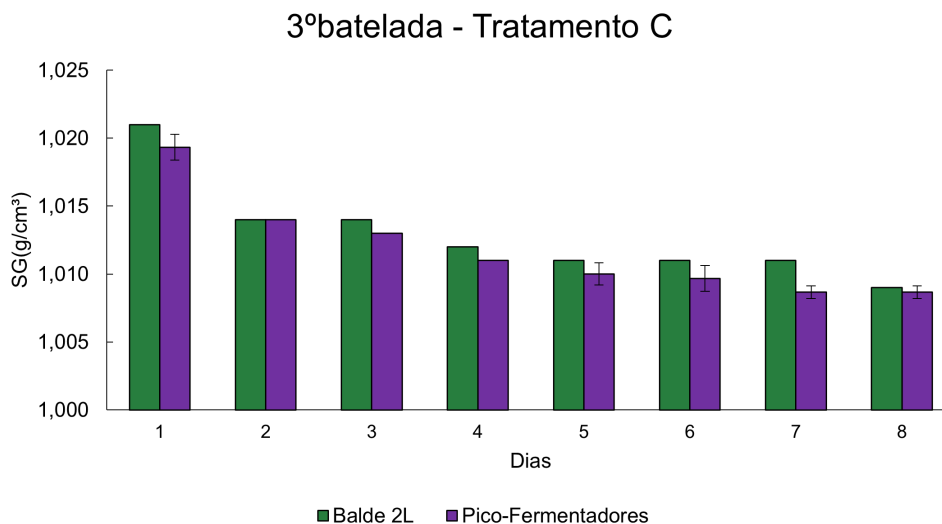
Variável Avaliada	Teste de Kruskal-Wallis	Teste de Dunn	Teste de Friedman	Teste de Siegel
	Valor P	Medianas diferentes	Valor P	Medianas diferentes
<b>1ª Batelada</b>				
SG "B 30 L"	—	—	0,0367	—
<b>2ª Batelada</b>				
Fenólicos "A"	0,037	Balde x Pfl	—	—
<b>3ª Batelada</b>				
SG "A"	—	—	0,004	—
SG "E"	—	—	0,005	Pfl x Pf3
SG "F"	—	—	0,01	—

Legenda. Pfl: Pico-fermentador 1

Fonte: Dados da pesquisa

Em relação a terceira batelada, os tratamentos “C” e “D” foram considerados estatisticamente diferentes (Tabela 1; Figura 3; Figura 4). Ademais, os tratamentos A e F, mesmo com  $P < 0,05$ , apresentaram medianas estatisticamente iguais, enquanto o tratamento E diferiu a mediana referente ao Pico-fermentador 1 da mediana referente ao Pico-fermentador 3 (Tabela 3).

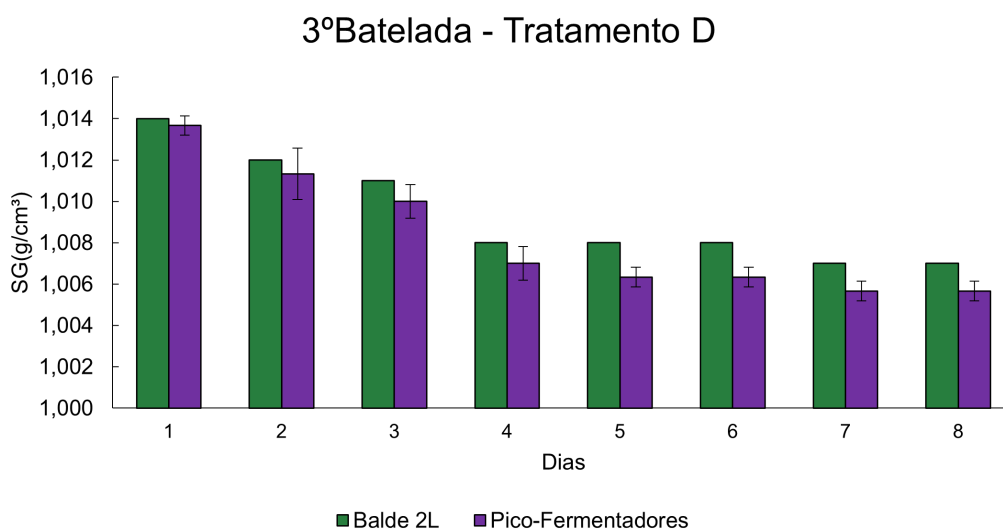
Figura 3 – Comparação entre balde e Pico-fermentadores (tratamento C), relacionada ao decaimento da gravidade específica



Fonte: Dados da pesquisa

*Fermentadores de baixo custo para ensaios de fermentação cervejeira em escala laboratorial*

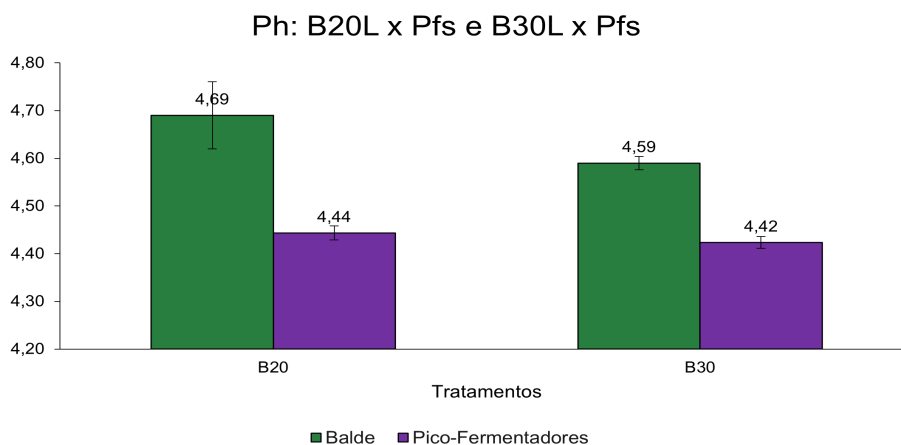
Figura 4 – Comparação entre balde e Pico-fermentadores (tratamento D), relacionada ao decaimento da gravidade específica



Fonte: Dados da pesquisa

A respeito da variação do pH, na primeira batelada, constatou-se diferença estatística significativa de dois tratamentos, balde 20 L x PFs e balde 30 L x PFs (Tabela 1), apresentando ligeiro aumento da acidificação por parte dos Pico-fermentadores (Figura 3). Já na terceira batelada, dentre a comparação dos 6 diferentes tratamentos: A, B, C, D, E, e F com seus respectivos pico-fermentadores, não houve diferença estatística significativa (Tabela 2).

Figura 5 – Comparação da variação do pH entre o balde e os PFs, na primeira batelada.



Fonte: Dados da pesquisa

Finalmente, no que diz respeito à comparação do potencial antioxidante, para a segunda batelada, constatou-se diferença significativa da comparação entre baldes e pico-fermentadores nos tratamentos A, para a metodologia de flavonoides (Tabela 1; Figura 6) e B, nas metodologias de fenólicos totais e DPPH (Tabela 1; Figura 7). Não somente, relacionado ao tratamento A, a comparação entre todas as medianas apontou diferença estatística entre o Pico-

Tallis Vinicius Araújo da Silva; Bruno Martins Dala Paula; Gabriel Gerber Hornink

fermentador 1 e o balde (Pf1= 0,102; Balde = 0,104), na metodologia de fenólicos totais (Tabela 3). No restante dos casos, os tratamentos A e B foram considerados estatisticamente iguais.

Figura 6 – Comparação entre balde e PFs para o método de flavonoides totais

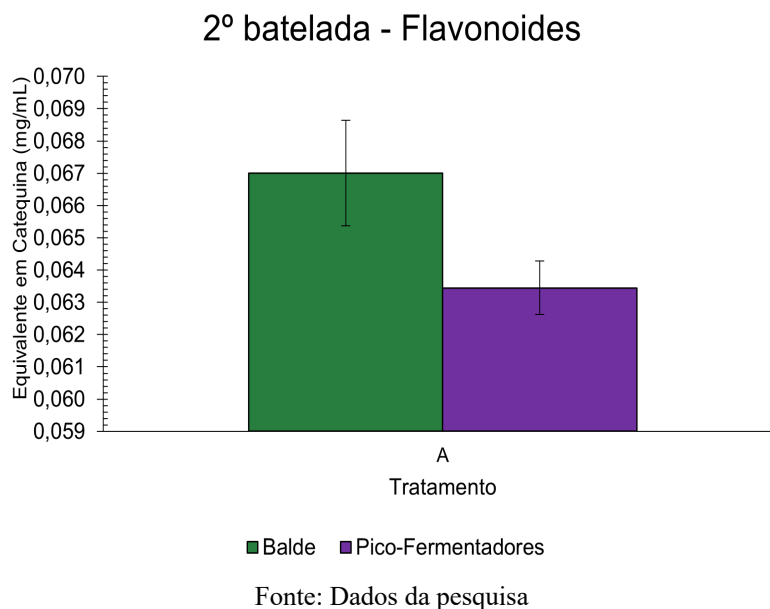
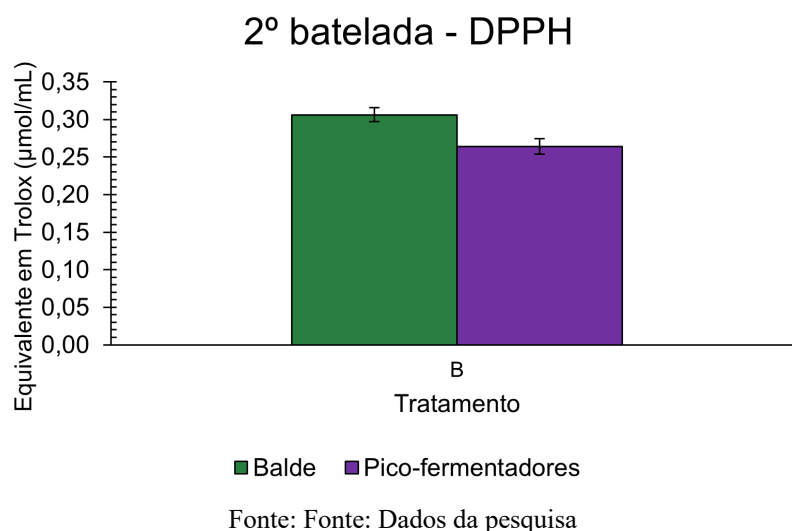


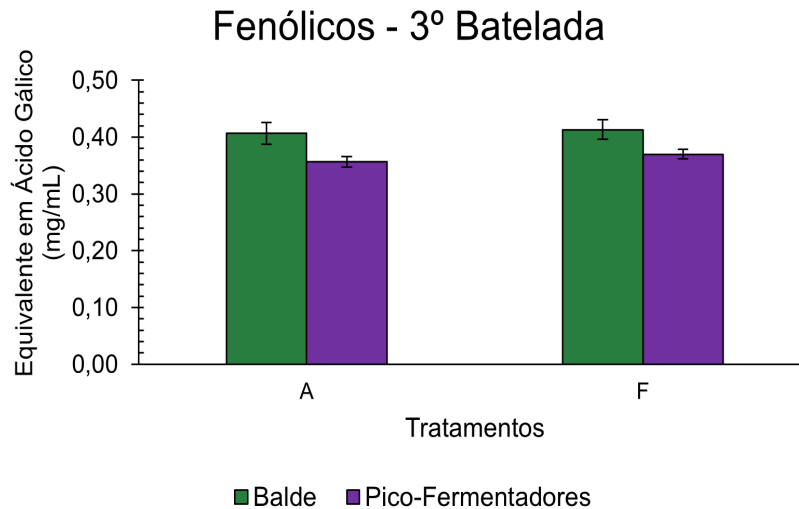
Figura 7 – Comparação entre balde e PFs nos métodos de DPPH, para o tratamento B



Relacionado a terceira batelada, observou-se diferença estatística significativa na metodologia de fenólicos totais, no tratamento A e F (Tabela 2; Figura 8). Já os demais casos analisados atestaram a semelhança entre os baldes e os Pico-fermentadores.

*Fermentadores de baixo custo para ensaios de fermentação cervejeira em escala laboratorial*

Figura 8 – Comparação entre balde e PFs nos métodos de fenólicos totais, para os tratamentos A e F



Fonte: Fonte: Dados da pesquisa

Com os resultados obtidos no trabalho, mesmo nas situações em que os pico-fermentadores foram considerados diferentes dos baldes, observa-se elevada proximidade entre os dados de comparação dos baldes com os pico-fermentadores, demonstrando a eficiência no uso do sistema para fermentação do mosto cervejeiro, além da similaridade com o sistema de fermentação convencional.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nas investigações conduzidas, que englobaram a validação de pico-fermentadores por meio da análise de variáveis fermentativas críticas, como pH, gravidade específica (SG) e potencial antioxidante, conclui-se que esses equipamentos apresentam alto grau de compatibilidade com os sistemas de fermentação convencionais em baldes. Especificamente, a ausência de diferenças estatisticamente significativas em relação à SG entre os dois sistemas sugere que os pico-fermentadores são igualmente confiáveis para aferições nessa variável.

No que concerne à variação do pH, embora tenham sido observadas diferenças estatísticas significativas em algumas bateladas, o impacto dessas variações foi mínimo, mantendo-se dentro de uma faixa aceitável para a produção cervejeira. Assim, não compromete a sua aplicabilidade tanto em cenários de pesquisa quanto industriais.

*Tallis Vinícius Araújo da Silva; Bruno Martins Dala Paula; Gabriel Gerber Hornink*

Diante do exposto, o sistema de pico-fermentadores não apenas se mostra útil para experimentações em laboratório, permitindo uma maior variedade de testes e repetições, como também detém potencial para ser implementado em contextos industriais para testes de novas receitas e avaliações sensoriais. Sua versatilidade e eficiência otimizam tanto o uso do tempo como dos recursos, tornando-o uma alternativa viável e eficaz ao sistema de fermentação convencional em baldes.

## 6. REFERÊNCIAS

- BAREITHER, R.; POLLARD, D. A review of advanced small-scale parallel bioreactor technology for accelerated process development: current state and future need. **Biotechnology Progress**, v. 27, n. 1, p. 2-14, 2011. Disponível em: <https://aiche.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/btpr.522>. Acesso em: 04 dez. 2025.
- BOULTON, C.; QUAIN, D. *Brewing Yeast and Fermentation*. Aylesbury: Blackwell Science, 2001.
- BRIGGS, D. E.; BOULTON, C. A.; BROOKS, P. A.; STEVENS, R. **Brewing: Science and Practice**. New York: CRC Press, 2004.
- BUENO, A. F.; VELOSO, G.A.; ALMEIDA, V.S.; HORNINK, G.G.; DALA-PAULA, B.M. Avaliação dos teores de fenólicos totais e do potencial antioxidante durante a produção de cerveja artesanal. **Exatas Online**, v.12, n. 2, p. 116 – 128, 2021. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/356536258\\_Avaliacao\\_dos\\_teores\\_de\\_fenolicos\\_totais\\_e\\_do\\_potencial\\_antioxidante\\_durante\\_a\\_producao\\_de\\_cerveja\\_artesanal](https://www.researchgate.net/publication/356536258_Avaliacao_dos_teores_de_fenolicos_totais_e_do_potencial_antioxidante_durante_a_producao_de_cerveja_artesanal). Acesso em: 04 dez. 2025.
- CABRAS, I.; BAMFORTH, C. From reviving tradition to fostering innovation and changing marketing: the evolution of micro-brewing in the UK and US, 1980–2012. **Business History**, v. 58, n. 5, p. 625-646, 2016. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/345117869\\_From\\_reviving\\_tradition\\_to\\_fostering\\_innovation\\_and\\_changing\\_marketing\\_the\\_evolution\\_of\\_micro-brewing\\_in\\_the\\_UK\\_and\\_US\\_1980-2012](https://www.researchgate.net/publication/345117869_From_reviving_tradition_to_fostering_innovation_and_changing_marketing_the_evolution_of_micro-brewing_in_the_UK_and_US_1980-2012). Acesso em: 28 nov. 2025.
- FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. **ExpDes.pt: Pacote Experimental Designs** (Português). R package version 1.2.2, 2021. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=ExpDes.pt>. Acesso em: 28 nov. 2025.
- HORNINK, G. G. **Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação**. Alfenas: Edição do autor, 2024. ISBN 9786501079615. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/360621535\\_Principios\\_da\\_producao\\_cervejeira\\_e\\_as\\_enzimas\\_na\\_mosturacao](https://www.researchgate.net/publication/360621535_Principios_da_producao_cervejeira_e_as_enzimas_na_mosturacao). Acesso em: 28 nov. 2025.
- HORNINK, G. G.; GALEMBECK, G.; MUXEL, A. A. **Glossário cervejeiro: da cultura à ciência**. 2. ed. São Paulo: LF Editorial, 2024.



*Fermentadores de baixo custo para ensaios de fermentação cervejeira em escala laboratorial*

- KASSAMBARA, A. **rstatix: Pipe-Friendly Framework for Basic Statistical Tests. R package version 0.7.2**, 2023. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=rstatix>. Acesso em: 28 nov. 20255.
- KROGERUS, K.; FLETCHER, E.; RETTBERG, N.; GIBSON, B.; PREISS, R. Efficient breeding of industrial brewing yeast strains using CRISPR/Cas9-aided mating-type switching. **Appl Microbiol Biotechnol.** v. 105, p. 83-859376, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-021-11626-y>. Acesso em: 04 dez. 2025.
- KUNZE, W. **Technology, brewing & malting**. 3. ed. Berlin: VLB Berlin, 2004.
- MENDIBURU, F. agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research. **R package version 1.3-5**, 2021. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=agricolae>. Acesso em: 28 nov. 2025.
- MUXEL, A. A. **Química da Cerveja: Uma Abordagem Química e Bioquímica das Matérias-Primas, Processo de Produção e da Composição dos Compostos de Sabores da Cerveja**. Curitiba: Editora Appris, 2022.
- R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2023. Disponível em: <https://www.R-project.org>. Acesso em: 28 nov. 2025.
- SAWATZKI, A. et al. Accelerated bioprocess development of endopolygalacturonase production with *Saccharomyces cerevisiae* using multivariate prediction in a 48 mini-bioreactor system. **Bioengineering**, v. 5, n. 4, p. 101, 2018. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2306-5354/5/4/101>. Acesso em: 04 dez. 2025.
- SHESKIN, D. J. **Handbook of Parametric and Nonparametric Statistical Procedures**. 5. ed. Boca Raton: Chapman and Hall/CRC, 2011.
- BRINK, J. et al. Dynamics of glycolytic regulation during adaptation of *Saccharomyces cerevisiae* to fermentative metabolism. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 18, p. 5710-5723, 2008. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.01121-08>. Acesso em: 28 nov. 2025.
- VENABLES, W. N.; RIPLEY, B. D. **Modern Applied Statistics with S**. 4. ed. New York: Springer, 2002.
- WANG, Z. et al. *Perilla frutescens* leaf extract and fractions: polyphenol composition, antioxidant, enzymes (alfa-glucosidase, acetylcholinesterase, and tyrosinase) inhibitory, anticancer, and antidiabetic activities. **Foods**, v. 10, n. 315, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods10020315>. Acesso em: 28 nov. 2025.
- WEUSTER-BOTZ, D. et al. Methods and milliliter scale devices for high-throughput bioprocess design. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 28, n. 2, p. 109-119, 2005. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00449-005-0011-6>. Acesso em: 04 dez. 2025.



*Tallis Vinícius Araújo da Silva; Bruno Martins Dala Paula; Gabriel Gerber Hornink*

ZHAO, X.; KERPES, RR.; BECKER, T. Evaluation of microtiter plate as a high-throughput screening platform for beer fermentation. *European Food Research and Technology*, v. 248, p. 1831 – 1846, 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00217-022-04009-8>. Acesso em 04 dez. 2025.

ZEILEIS, A.; HOTHORN, T. Diagnostic Checking in Regression Relationships. *R News*, v. 2, n. 3, p. 7-10, 2002. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/doc/Rnews>. Acesso em: 28 nov. 2025.

### **AGRADECIMENTOS**

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela bolsa e recursos para realização desta pesquisa.