



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

TAMMYRYS MARIA DE OLIVEIRA DANTAS

**AVALIAÇÃO CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DE MEL
INDUSTRIAL COMO SUBSTRATO NA PRODUÇÃO DE HIDROMEL**

JOÃO PESSOA

2016

TAMMYRYS MARIA DE OLIVEIRA DANTAS

**AVALIAÇÃO CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DE MÉIS
INDUSTRIAIS COMO SUBSTRATO NA PRODUÇÃO DE HIDROMÉIS**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado ao Departamento de Engenharia de
Alimentos da Universidade Federal da Paraíba
como requisito parcial para a obtenção do título de
Bacharela em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Barbosa Muniz

JOÃO PESSOA

2016

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente, a Deus por ser meu porto seguro e essencial em minha vida, e me permitiu trilhar esta caminhada. A minha mãe Selma e ao meu pai Otoniel, pois confiaram em mim e me deram esta oportunidade de concretizar e encerrar mais uma caminhada da minha vida. Sei que eles não mediram esforços para que este sonho se realizasse, sem a compreensão, ajuda e confiança deles nada disso seria possível hoje. A Deus e aos meus pais além da dedicatória desta conquista dedico a minha vida.

Ao meu noivo Filype, por toda paciência, compreensão, carinho e amor, e por me ajudar muitas vezes a achar soluções quando elas pareciam não aparecer. Você foi a pessoa que compartilhou comigo os momentos de tristezas e alegrias. Além deste trabalho, dedico todo meu amor a você. Não poderia deixar de dedicar também este trabalho a duas pessoas especiais em minha vida, minha tia Silvana e ao meu tio Ailton, fundamentais em minha vida, que muitas vezes compartilhei momentos de tristezas, alegrias, angústias e ansiedade, mas que sempre estive ao meu lado me apoiando e me ajudando.

Aos meus amigos, que me apoiaram e que sempre estiveram ao meu lado durante esta longa caminhada.

A estes dedico meu trabalho, sem a ajuda, confiança e compreensão de todos, este sonho não teria se realizado. Vocês são tudo para mim! Muito obrigada por tudo!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem ele eu não teria traçado o meu caminho e feito a minha escolha pela Engenharia de Alimentos. Aos meus pais que doaram seu tempo para que se efetivasse a minha pesquisa, sem eles nada disso seria possível, eles foram a peça fundamental para a concretização do meu trabalho. A vocês expesso o meu maior agradecimento. Agradeço principalmente a minha família, pela torcida, orações e rezas, sempre acreditando no meu potencial. Ao meu noivo por ter me apoiado e ficado ao meu lado nas horas que eu mais precisava. Aos meus amigos por todo companheirismo e amizade, em especial aos da ENGAJA que contribuíram para meu crescimento pessoal e acadêmico e se fizeram tão presentes durante toda essa jornada, a Matheus, Jacinta e Fernanda por terem me ajudado na concretização deste trabalho, a meu primo Rafael por toda força e companheirismo ao longo dessa caminhada, a Cibelly pela sua amizade e companhia, sempre me ajudando quando podia, muito obrigada pela amizade de todos vocês. A todos os professores e em especial a meu orientador Marcelo Muniz, por exigir de mim muito mais do que eu supunha ser capaz de fazer. Agradeço por transmitir seus conhecimentos e por fazer da minha monografia uma experiência positiva e por ter confiado em mim, sempre estando ali me orientando e dedicando parte do seu tempo. Muito obrigada por tudo, pela paciência, pela amizade e pelos ensinamentos que levarei para sempre. Aos funcionários da Universidade Federal da Paraíba, em especial aos funcionários dos laboratórios do Departamento de Engenharia de Alimentos e Química Industrial que sempre tiraram minhas dúvidas e sempre me ajudaram. Obrigada!

“Algumas pessoas marcam a nossa vida para sempre, umas porque nos vão ajudando na construção, outras porque nos apresentam projetos de sonho e outras ainda porque nos desafiam a construí-los”.

EPÍGRAFE

“Em seu coração o homem planeja o seu caminho, mas o Senhor determina seus passos.”
Provérbios 16:9

DANTAS, Tammyrys Maria de Oliveira. **Avaliação cinética da fermentação alcoólica de mel industrial como substrato para produção de hidromel.** Trabalho de Conclusão de Curso. Curso de Engenharia de Alimentos. Centro de Tecnologia. Universidade Federal da Paraíba, 2016.

RESUMO

O hidromel resulta da fermentação de uma mistura de mel e água, sendo uma boa opção de renda para os produtores de mel (agregação de valor) uma vez que possui um grande potencial comercial. O objetivo principal do presente trabalho foi produzir e avaliar a cinética dos hidroméis produzidos a partir de três marcas distintas de méis industrializados. Realizou-se a caracterização das amostras dos méis, posteriormente a elaboração dos fermentados de mel a partir dos méis de marcas diferentes, com concentrações de sólidos solúveis totais no mosto inicial de 20 °Brix, utilizando-se levedura seca granulada de panificação. O processo de fermentação descontínua ocorreu em um fermentador artesanal em polietileno, com volume máximo de 4L. Os mostos foram analisados quanto aos valores de pH, acidez total, teor alcoólico, sólidos solúveis totais (SST), temperatura, massa celular e açúcares redutores totais (ART). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três tratamentos e três repetições, totalizando 9 experimentos. Em relação ao pH, no processo fermentativo, os valores variaram de 3,30 a 3,96, em relação aos SST apresentaram valores finais de 0,4,1 °Brix para os fermentados 1,2 e 3, respectivamente. Houve um aumento celular dentro dos biorreatores para todos os experimentos no decorrer do processo de fermentação alcoólica dos hidroméis. Os teores alcoólicos das amostras foram 11,6%, 8,9% e 10,6%. Foram obtidos hidroméis com aspecto límpido e coloração típica do mel.

Palavras-chave: bebida alcoólica; bebida de mel; processo fermentativo; *Saccharomyces cerevisiae*

DANTAS, Tammyrys Maria de Oliveira. **Kinetic evaluation of the industrial honey alcoholic fermentation as a substrate to the mead production.** Dissertation for the Bachelor Degree in Food Engineering. Technology Center. Federal University of Paraíba, 2016.

ABSTRACT

The mead is a result from a mix of honey and water. It is a good income alternative for honey producers since it has a great business potential. The main goal of this work was to produce and evaluate the kinetics of the mead made from three different brands of manufactured mead. Using grainy bakers' dry yeast on different brands of mead with different concentration of total soluble solids on the 20° Brix initial must, it was made the characterization of the honey, and secondly the development of fermented honey. The discontinuous fermentation process took place in a polyethylene simple fermenter with a max volume of 4 liters. The musts were analyzed with respect to the values of pH, total acidity, alcohol content, soluble solids, temperature, cellular mass and total reducing sugars. The experimental outlining was fully designed with three treatments and three repetitions, which totalizes nine experiments. With respect to the pH, values ranged from 3,30 to 3,96. With respect to the total soluble solids, there were changes ending at 0°, 4°, and 1° Brix to the fermented 1, 2, and 3 respectively. Also, there was a cellular change inside the bioreactors during all the experiments during the alcoholic fermentation process of the meads. The alcohol content of the samples was 11,6%, 8,9%, and 10,6% respectively. On the same way, it was obtained a mead clear in appearance and with a color common for honey.

Keywords: alcoholic beverage, honey-based drink, fermentative process, *Saccharomyces cerevisiae*.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 12 |
| 2 OBJETIVOS | 14 |
| 2.1 Objetivo geral | 14 |
| 2.2 Objetivos específicos | 14 |
| 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA..... | 15 |
| 3.1 Mel | 15 |
| 3.1.1 Caracterização e legislação brasileira para o mel | 15 |
| 3.2 Características físico-química do mel | 17 |
| 3.2.1 Sólido solúveis totais | 17 |
| 3.2.2 pH | 18 |
| 3.2.3 Acidez | 18 |
| 3.2.4 Umidade | 19 |
| 3.2.5 Cinzas | 20 |
| 3.2.6 Hidroximetilfurfural | 20 |
| 3.2.7 Condutividade elétrica | 21 |
| 3.2.8 Atividade de água | 21 |
| 3.3 Hidromel..... | 22 |
| 3.3.1 Histórico | 22 |
| 3.3.2 Legislação brasileira para o hidromel | 23 |
| 3.3.3 Preparo do mosto de mel | 24 |
| 3.3.4 Processo fermentativo..... | 25 |
| 3.3.5 Cinética da fermentação alcoólica | 26 |
| 4 METODOLOGIA..... | 28 |
| 4.1. Área de estudo..... | 28 |
| 4.2. Obtenção das amostras | 28 |
| 4.3 Caracterização das amostras dos méis | 29 |
| 4.3.1 Sólidos solúveis totais (°Brix) | 29 |
| 4.3.2 pH | 29 |
| 4.3.3 Acidez Total..... | 29 |
| 4.3.4 Acidez Fixa..... | 30 |
| 4.3.5 Acidez Volátil..... | 30 |

| | |
|--|-----------|
| 4.3.6 Umidade (%) | 31 |
| 4.3.7 Cinzas (Sais Minerais) (%)..... | 31 |
| 4.3.8 Condutividade elétrica (S/cm) | 32 |
| 4.3.9 Hidroximetilfurfural – HMF (mg/Kg)..... | 32 |
| 4.3.10 Atividade de água (Aw)..... | 32 |
| 4.4 Análise estatística dos dados..... | 32 |
| 4.5 Legislação Brasileira | 33 |
| 4.6 Elaboração do Hidromel..... | 33 |
| 4.6.1. Formulação do Mosto..... | 34 |
| 4.6.2. Preparo do Mosto | 35 |
| 4.6.3. Adição do inóculo..... | 36 |
| 4.6.4. Fermentação alcoólica | 36 |
| 4.6.5 Análises de acompanhamento da fermentação..... | 37 |
| 4.6.6 Trásfega | 39 |
| 4.6.7 Centrifugação..... | 40 |
| 4.6.8 Pasteurização | 40 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES | 42 |
| 5.1 Análises físico-químicas dos méis..... | 42 |
| 5.2 Acompanhamento cinético fermentativo..... | 45 |
| 6 CONCLUSÃO | 52 |
| 7 PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS..... | 53 |
| REFERÊNCIAS | |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Padrões de identidade e qualidade para o hidromel..... | 24 |
| Tabela 2 – Padrões de identidade e qualidade para o mel..... | 34 |
| Tabela 3–Intervalos para retiradas das alíquotas dos fermentados para as análises..... | 37 |
| Tabela 4 – Valores utilizados na diluição das amostras..... | 39 |
| Tabela 5 – Resultados obtidos durante o processo fermentativo..... | 46 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 – Mel de abelha (A) da espécie <i>Apis mellífera L.</i> (B)..... | 16 |
| Figura 2 – Amostras de méis industrializados de marcas distintas..... | 29 |
| Figura 3 – Fluxograma para obtenção do fermentado (hidromel) | 35 |
| Figura 4 – Processo de fermentação alcoólica dos hidroméis..... | 38 |
| Figura 5 – Complexo de descarga do biorreator composto por duas válvulas de escape..... | 41 |
| Figura 6 – Centrifuga da marca Excelsa II, Modelo 206 BL; D: Fermentado na centrífuga para processo de análise clarificação..... | 41 |
| Figura 7 – E: Hidromel em banho-maria a 65°C; F: Hidromel no banho de gelo..... | 42 |
| Figura 8 – Gráfico dos valores de pH dos fermentados durante a fermentação..... | 47 |
| Figura 9 – Gráfico dos valores da acidez dos fermentados durante a fermentação..... | 48 |
| Figura 10 – Gráfico das temperaturas dos fermentados em relação ao tempo..... | 49 |
| Figura 11 –Gráfico do consumo de açúcares ao longo do tempo da fermentação..... | 50 |
| Figura 12 – gráfico do teor de álcool ao longo do tempo de fermentação..... | 50 |
| Figura 13 – Comportamento do crescimento celular nos biorreatores 1,2 e 3..... | 51 |
| Figura 14- Comportamento dos substratos (art) durante o processo de fermentação alcoólica..... | 52 |

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um crescente produtor e exportador de mel, tendo considerável participação na produção mundial desse produto. Em 2013, esteve entre os 10 principais produtores de mel no mundo (BUCCIANO, 2014).

Segundo (FAO, 2015) o Brasil encontra-se no décimo primeiro lugar no ranking de produção mundial de mel, com uma produtividade de 41.578 toneladas ao ano. Liderando o ranking temos a China com uma produtividade de 466.300 toneladas ao ano, com uma produção dez vezes maior que a brasileira.

Os méis apresentam grande variação de cor o que pode intervir na preferência do consumidor que, geralmente escolhe o mel claro em detrimento do mel escuro, o tornando com menor valorização comercial (CARDOSO, 2011).

O mel possui cerca de 200 substâncias (AL-MAMARY et al., 2009; ARRÁEZ-ROMÁN et al., 2006; KÜÇÜK et al., 2007), sendo as principais, os hidratos de carbono, e as secundárias, os minerais, proteínas, vitaminas, lipídios, ácidos orgânicos, aminoácidos (FINOLA et al., 2007), compostos fenólicos, enzimas e outros fitoquímicos (BERTONCELJ et al., 2007).

O mel pode ser utilizado para outros fins, tendo como exemplo a elaboração de novos produtos. O hidromel é um desses produtos elaborados a partir de mel.

O princípio do hidromel possivelmente vem dos países africanos e, futuramente, passou a ser fabricado em toda a bacia do Mediterrâneo e Europa, realizando um papel significativo nas antigas civilizações. As bebidas fermentadas de mel possivelmente são as mais antigas bebidas alcoólicas conhecidas pelo homem, sendo elaboradas há milhares de anos antes da cerveja e do vinho, com relatos de coletas de mel por volta de 8.000 a.C. (IGLESIAS et al., 2014).

O Hidromel, segundo o Decreto n. 6871 de 4 de julho de 2009, "... é a bebida com teor alcoólico de 4 a 14 % em volume, 20°C, obtida pela fermentação alcoólica de solução de mel de abelha, água potável e sais nutrientes" (BRASIL, 2009). Conforme com este instrumento legal, pode ser categorizado em seco ou suave, de acordo a quantidade de açúcar na bebida (BRASIL, 2012).

A produção do hidromel depende de inúmeros fatores, qualidade das matérias-primas, a natureza de microrganismos fermentativo, aditivos, práticas de vinificação, processo de maturação, etc. (GUPTA; SHARMA; 2009).

O hidromel tem gradual importância econômica devido às propriedades nutricionais e terapêuticas que são referentes ao mel e uma demanda gradativa por produtos fermentados.

Apesar da sua relevância social, econômica e ambiental existem poucas referências sobre os parâmetros cinéticos, físico-químico, palinológico e sensorial do hidromel, que pode contribuir para a definição de padrões de qualidade e de legislação referente a sua produção, beneficiamento e comercialização.

Dessa forma o trabalho teve por objetivo produzir e avaliar a cinética dos hidroméis produzidos a partir de três marcas distintas de méis industrializados.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Produzir e avaliar a cinética dos hidroméis produzidos a partir de três marcas distintas de méis industrializados.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar as amostras dos diferentes méis através das análises físico-química;
- Produzir hidroméis a partir das amostras caracterizadas;
- Determinar e avaliar o processo da cinética fermentativa.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

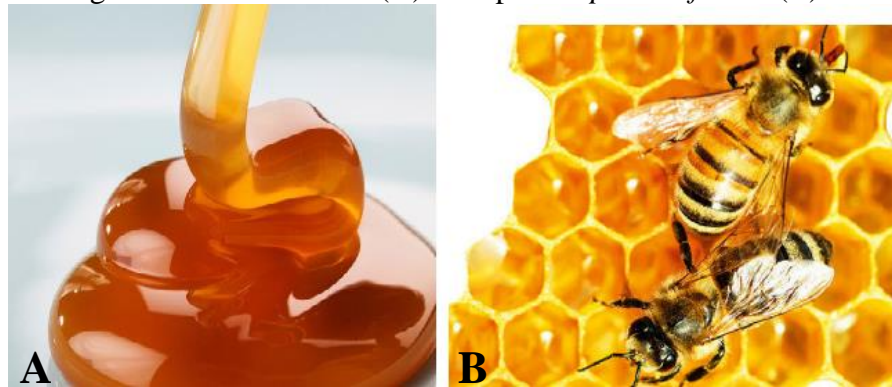
3.1 Mel

3.1.1 Caracterização e legislação brasileira para o mel

O Brasil, por possuir uma grande diversidade florística e climática, é um país que apresenta características muito favoráveis à apicultura que, aliadas à presença das abelhas, especialmente as africanizadas, conferem-lhe um potencial fabuloso para a atividade apícola (OLIVEIRA, 2006).

Mel (Figura 1A) é o produto alimentício proporcionado pelas *Apis melífera* L., a partir do néctar das flores ou da eliminação oriunda de partes vivas das plantas ou de ejeção de insetos sugadores de plantas que se encontram sobre partes vivas de plantas, em que as abelhas recolhem, transformam, conciliam com substâncias específicas próprias, conservam e deixam madurar nos favos da colmeia (BRASIL, 2000).

Figura 1- Mel de abelha (A) da espécie *Apis melífera* L.(B)



Fonte: A- <http://culinaria.culturamix.com/blog/wp-content/gallery/balas-de-mel-5/Balas-de-Mel-15.jpg>; B-http://www.cmcarrazedadeansiaes.pt/thumbs/uploads/writer_fiLe/image/793/mel2_1_736_2500.jpg

Para atender a comercialização e garantir a qualidade do mel, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), por meio da legislação n° 11 de 20 de outubro de 2000, validou o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel, acordando os requisitos mínimos de qualidade que deve exercer o mel proposto ao consumo humano (BRASIL, 2000).

O mel é classificado pela legislação vigente (BRASIL, 2000) quanto a sua origem, procedimento de obtenção e apresentação/processamento. Segundo sua origem, se tem:

- ✓ Mel floral: obtido dos néctares das flores, que se divide em mel unifloral ou monofloral: quando o produto procede principalmente de flores de uma mesma família, gênero ou espécie e possua características sensoriais, físico-químicas e microscópicas próprias;
- ✓ Mel multifloral ou polifloral: obtido a partir de diferentes origens florais e melato;
- ✓ Mel de melato: obtido principalmente a partir de secreções das partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que se encontram sobre elas. Segundo o procedimento de obtenção de mel, se tem:
 - ✓ Mel escorrido: obtido por escorrimento dos favos desoperculados, sem larvas;
 - ✓ Mel prensado: obtido por prensagem dos favos, sem larvas e mel centrifugado: obtido por centrifugação dos favos desoperculados, sem larvas. Segundo sua apresentação e/ou processamento:
- ✓ Mel: produto em estado líquido, cristalizado ou parcialmente cristalizado;
- ✓ Mel em favos ou mel em secções: produto armazenado pelas abelhas em células operculadas de favos novos, construídos por elas mesmas, que não comporte larvas e seja comercializado em favos inteiros ou em secções de tais favos;
- ✓ Mel com pedaços de favo: produto que contém um ou mais pedaços de favo com mel, isentos de larvas;
- ✓ Mel cristalizado ou granulado: produto que sofreu um processo natural de solidificação, como consequência da cristalização dos açúcares;
- ✓ Mel cremoso: produto com estrutura cristalina fina e que pode ter sido submetido a um processo físico, que lhe proporcione essa estrutura e que o torne fácil de untar;
- ✓ Mel filtrado: produto submetido a um processo de filtração, sem alterar o seu valor nutritivo (BRASIL,2000).

O mel é notoriamente o principal produto proveniente da apicultura. Suas características podem ser alteradas de acordo com o tipo de flor utilizada pelas abelhas, clima, solo, umidade, altitude, entre outros, afetando o sabor, a cor e também o aroma do mesmo (VENTURIN et al., 2007).

Mundialmente é considerado um alimento muito rico e de elevado valor energético, de máxima importância para a saúde do organismo humano quando puro, por apresentar diversas propriedades: antimicrobiana, curativa, calmante, regenerativa de tecidos e estimulantes (SILVA; MAIA et.al, 2006).

3.2 Características físico-química do mel

As análises físico-químicas do mel operam papel importante na fiscalização e no controle de qualidade. Desta forma, é permitido comparar os resultados alcançados com padrões citados por órgãos oficiais, preservando o consumidor de comprar um produto adulterado, fraudado ou com manipulação imprópria (SILVA et al. 2008; SILVA, et al. 2011).

É de fundamental importância a caracterização de méis visando à criação de padrões, segundo os fatores edafoclimáticos e florísticos da região, estabelecendo critérios comparativos nas análises e controlando possíveis fraudes desse produto (SODRE, 2005).

A maior fração da composição do mel é formada por hidratos de carbono, dentre estes os que estão presentes em maior quantidade são a frutose com 38,4 %, a glicose (30,3 %) e a sacarose (1,3 %) (IURLINA; FRITZ, 2005).

Há uma grande variabilidade na composição química e física do mel, devido especialmente, das fontes vegetais (origem floral) cujo o mel é elaborado, mas também de diversos fatores, como a espécie da abelha, o solo, o estado fisiológico da colônia, o estado de maturação do mel, as circunstâncias meteorológicas quando da colheita, além das condições de processamento e armazenamento (SILVA et al., 2004; ARRÁEZ-ROMÁN et al., 2006).

A formação química do mel é complexa, contendo mais de 200 substâncias (ARRÁEZ-ROMÁN et al., 2006), sendo assim os carboidratos e a água são os constituintes básicos. Além dos açúcares em solução, o mel também comporta ácidos orgânicos, enzimas, vitaminas, flavonóides, minerais e uma enorme variedade de compostos orgânicos, que contribuem para sua cor, odor e sabor (FINOLA et al., 2007; ESTEVINHO et al., 2012; IGLESIAS et al., 2012).

O mel é a principal matéria-prima para a produção de hidromel consequentemente, influencia diretamente a produção e as características dessa bebida (RAMALHOSA et al., 2011).

A composição química do mel pode interferir na qualidade do hidromel (ARRÁEZ-ROMÁN et al., 2006).

3.2.1 Sólido solúveis totais

O mel é qualificado por um alto conteúdo dos monossacarídeos glicose e frutose. Em função da pouca solubilidade, a glicose determina a tendência da cristalização do mel, enquanto que a frutose, por ter alta higroscopicidade, possibilita a sua doçura (SEEMANN, 2008).

Dentre os dissacarídeos detectados no mel, a sacarose prevalece, e quando certificadas em valores altos geralmente indica um mel “verde” ou adulterado. É um açúcar não redutor, passível de hidrólise por meio de ácidos diluídos ou enzimas (invertase), resultando nos monossacarídeos, frutose e glicose (VIDAL, 2004).

Os sólidos solúveis correspondem a todas as substâncias que se estão dissolvidas em um determinado solvente. São constituídos principalmente por açúcares, variáveis com a espécie da planta e o clima. São designados como °Brix e tem tendência de aumento com a maturação. Os sólidos podem ser medidos na indústria ou no campo, com auxílio de um refratômetro (CHITARRA, 2005).

3.2.2 pH

O pH do mel é influenciado pela origem botânica, sendo geralmente inferior a 4,0 para mel de origem floral e superior a 4,5 para os méis de melato. Pode ainda ser influenciado pela concentração de diversos ácidos, cálcio, sódio, potássio e outros constituintes das cinzas (AZEREDO, 2007).

O valor de pH do mel alterna entre 3,4 e 6,1, com uma média de 3,9 (IURLINA; FRITZ, 2005). No entanto, o pH não está diretamente relacionado com a acidez, devido à ação de tamponamento de ácidos e sais minerais encontrados no mel (DE RODRIGUEZ et al., 2004).

O pH determinado no mel refere-se aos íons hidrogênio presentes numa solução e pode atuar na formação de outros componentes, como na velocidade de produção do hidroximetilfurfural (CARVALHO, 2005).

3.2.3 Acidez

A diversidade e quantidade destes ácidos orgânicos variam em função de diferentes fontes do néctar, pela ação da enzima glicose-oxidase que origina o ácido glutônico, pela ação das bactérias durante a maturação do mel e ainda a quantidade de materiais presentes (ARAÚJO; SILVA; SOUSA, 2006), influenciando diretamente o pH do mel. De acordo com os padrões vigentes de identidade e qualidade (BRASIL, 2000), acidez do mel não deve exceder a 50 milequivalentes por quilo de mel.

A acidez é um significativo componente do mel, pois contribui para a sua estabilidade, frente ao desenvolvimento de microrganismos. Os ácidos dos méis estão dissolvidos em solução aquosa e fornecem íons de hidrogênio que promovem a sua acidez ativa, permitindo assim,

indicar as condições de armazenamento e ocorrência de processos fermentativos (CRANE, 2007).

Um dos ácidos fundamentais é o glucônico que é gerado pela ação da enzima glicoseoxidase sobre a glicose e está em equilíbrio com a glicolactona (OLAITAN et al., 2007). Esta constância denota a acidez lactônica, isto é, uma reserva potencial de acidez, que juntamente com a acidez livre constitui a acidez total do mel.

Segundo Bogdanov et al. (2010), a glicolactona está diretamente relacionada com a propriedade antimicrobiana do mel.

Os ácidos orgânicos do mel representam menos que 0,5% dos sólidos, tendo um acentuado efeito no flavor, podendo ser responsáveis, em parte, pela ótima estabilidade do mel em frente a microrganismos (PEREIRA, et al., 2008). A legislação tolera acidez máxima de 50 mEq/Kg de mel (BRASIL, 2000).

3.2.4 Umidade

A atividade de água e seu teor de umidade são os principais fatores que influem na preservação da qualidade do produto, principalmente no tocante a degradação microbiológica deste produto (FERRAZ, 2015).

Na composição do mel a água compõe o segundo componente em quantidade, em geral variando de 15 a 21%, dependendo do clima, origem floral e colheita antes da completa desidratação. O conteúdo de água no mel é, sem dúvida, uma das características mais significante, podendo influenciar na sua viscosidade, peso específico, maturidade, cristalização, sabor, palatabilidade e conservação (MARCHINI et al., 2004). Geralmente o mel maduro tem menos de 18% de água (FRÍAS, 2008).

Os microrganismos mofílicos (tolerantes ao açúcar), existentes nos corpos das abelhas, no néctar, no solo, nas áreas de extração e armazenamento são capazes de provocar fermentação no mel quando o teor de água for muito elevado (MARCHINI, 2004; SODRÉ E MORETI, 2004).

Outro ponto a ser abordado é o manejo utilizado para opercular o mel, ou seja, a abelha africanizada (*Apis*) de certa maneira, só opercula o mel quando este já se encontra em ponto de coleta (17% 18% de umidade), o que pode ser particularizado no caso de abelha nativa, a qual opercula os potes de mel com esses apontando ainda uma umidade em torno de 24%. (EVANGELISTA-RODRIGUES et al., 2005).

O mel deve apresentar no máximo 20 g de umidade/ 100g de mel analisado (BRASIL, 2000).

3.2.5 Cinzas

Os minerais (cinzas) estão presentes no mel em pequenas quantidades. Os teores de cinzas, em geral, variam de 0,1% (m/m) a 1,0% (m/m) (BOGDANOV, 1999).

O conteúdo de minerais, bem como proteínas, acidez, pH e outras substâncias, estão diretamente relacionadas com a condutividade elétrica do mel. Esta característica pode ser usada como método suplementar de análise da origem do mel (AGANIN,1971; SODRÉ,2005).

Por meio do método de determinação de cinzas é possível determinar algumas irregularidades no mel, como exemplo a falta de higiene e a não decantação e/ou filtração no final do processo de retirada do mel pelo apicultor (EVANGELISTA–RODRIGUES, 2005).

O máximo de cinzas permitido é de 0,6g/100g de mel, contudo no mel de melato e suas misturas com mel floral tolera-se até 1,2g/100g de mel (BRASIL, 2000).

3.2.6 Hidroximetilfurfural

O uso de HMF (Hidroximetilfurfural) como um padrão de qualidade é fundamentado no fato de que, como este composto em geral é encontrado em pequenas quantidades em mel recém-colhidos (mel fresco), os valores alterados de HMF podem apontar alterações importantes geradas por armazenamento prolongado em temperatura ambiente alta e/ou superaquecimento, além das adulterações provocadas por adição de açúcar invertido (SILVA et al., 2004).

Segundo Fallico et al. (2004), a formação de HMF ocorre devido a desidratação de hexose catalisada por ácidos, aliada as propriedades químicas do mel (pH, umidade, acidez total e minerais).

O hidroximetilfurfural (HMF) é formado pela reação de certos açúcares com ácidos. Seu conteúdo pode aumentar com a elevação da temperatura, armazenamento, adição de açúcar invertido, podendo ser afetado também pela acidez, pH, água e minerais no mel. É um indicador de qualidade no mel, visto que, quando exorbitante representa uma queda no seu valor nutritivo, pela destruição, por intermédio de aquecimento de algumas vitaminas e enzimas que são termolábeis.

Os níveis de hidroximetilfurfural aceitos pela legislação brasileira e comunidade Europeia são de no máximo 60 mg/Kg (BRASIL, 2000).

3.2.7 Condutividade elétrica

Pesquisas tem demonstrado valores de condutividade elétrica variando entre 66 e 2200 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (CRECENTE; LATORRE, 1993; ALMEIDA, 2002), demonstrado a diversidade das características do mel de acordo com a origem geográfica que é produzido.

A condutividade elétrica pode ser utilizada como um parâmetro suplementar na definição da origem botânica do mel, tem relação com o conteúdo de cinzas, pH, acidez, sais minerais, e outras substâncias presentes no mel (AGANIN, 1971).

De acordo com Almeida (2002), a condutividade elétrica depende do conteúdo em cinzas e ácido do mel. É um bom critério para avaliar a origem botânica de méis monoflorais.

3.2.8 Atividade de água

De acordo com FRANCO e LANDGRAF (1996), atividade de água é o parâmetro que estabelece a água disponível no alimento para o metabolismo microbiano. A água que está ligada por forças físicas às macromoléculas, não se encontra livre para agir como solvente ou para fazer parte de reações químicas e, portanto, não pode ser aproveitada pelos microrganismos.

Conforme ROBINSON e NIGAM (2003) as bactérias resistem a valores de atividade de água de até 0,75, as leveduras valores de até 0,62 a 0,64 e os fungos filamentosos desenvolve-se rapidamente com atividade de água inferior a 0,85 e até 0,61.

A água é o segundo composto mais significativo no mel, variando a quantidade de acordo com a época de colheita, fatores climáticos e grau de maturação da colmeia (FINOLA et al., 2007).

A atividade de água no mel é de 0,5 a 0,6 (IORLINA e FRITZ, 2005) e a variabilidade deste elemento interfere na viscosidade do produto (OLAITAN et al., 2007). Os méis com uma $a_w \leq 0,60$ são biologicamente estáveis.

A simples e rápida determinação do teor de água, que é o cálculo realizado pela subtração do valor de sólidos solúveis totais (°Brix) de 100, comprovou ser suficiente para estimar o risco de fermentação de mel (RAMALHOSA et al., 2011).

Segundo a legislação portuguesa (Decreto-Lei 214/2003 de 18 de Setembro) o limite máximo de água no mel é 20%.

3.3 Hidromel

3.3.1 Histórico

Hidromel ou “bebida dos deuses” é uma bebida fabricada originalmente de água e mel fermentados e caracterizado como das mais antigas consumidas pelo homem, talvez mesmo antes do vinho e é provavelmente a precursora da cerveja. Antigamente o seu uso era generalizado, mas o avanço das civilizações e dos recursos agrícolas estimulou a substituição do hidromel por outras bebidas como o vinho (PEREIRA,2008).

A origem do hidromel provavelmente vem dos países africanos e, mais tarde, passou a ser produzido em toda a bacia do Mediterrâneo e Europa, desempenhando um papel importante nas antigas civilizações. As bebidas fermentadas de mel provavelmente são as mais antigas bebidas alcoólicas conhecidas pelo homem, sendo elaboradas há milhares de anos antes do vinho e cerveja, com relatos de coletas de mel por volta de 8.000 a.C. (IGLESIAS et al., 2014).

A primeira definição conhecida de hidromel foi encontrada no Rigved, livro dos Hinos, que foi escrito em torno de 1.700 – 1.100 a.C.; é o documento mais arcaico da literatura hindu. Na mitologia celta, anglo-saxões e vikings, o hidromel era parte importante dos rituais, por ser conceituada como bebida dos nobres e deuses. Para esses povos, essa bebida promovia a imortalidade, conhecimento e dom da poesia, e acreditava-se ter poderes mágicos e de cura, capazes de aumentar força, vigor e fertilidade (GUPTA; SHARMA, 2009).

Os escritores romanos, Lucius Junius Moderatus (Columella) conhecido por se dedicar à agricultura, em seu livro *De Re Rustica* (42 d.C.) e o naturalista Plínio (Velho), em sua obra *Naturalis Historia* (77 d.C.), relataram o uso empírico de mel para a produção de hidromel, fornecendo uma descrição detalhada do procedimento utilizado para a elaboração da bebida tradicional (IGLESIAS et al., 2014).

Existe outras bebidas alcoólicas produzidas a partir de mel, como o hidromel braggot feito com grãos de malte (mosto cervejeiro) e mel; hidromel brandy, uma bebida que se parece ao licor, pois após a etapa de fermentação há adição de mel e aguardente de mel, obtida pela destilação do hidromel (IGLESIAS et al., 2014).

Existe várias qualificações de hidromel ao redor do mundo, na Espanha temos o Aguamiel, França e Portugal o hidromel, na Itália o Idromele, na Índia o Madhu, e na Holanda o Mede, dentre outros países (SOLORD, 2015).

O hidromel é pouco conhecido em alguns países, mas pode apresentar um grande potencial comercial e um elevado valor agregado. O preço de uma garrafa de 750 mL de hidromel no exterior está na faixa de US\$ 10,00 a US\$ 20,00, podendo chegar a custar US\$ 70,00 dependendo da qualidade da bebida, enquanto que no mercado brasileiro uma garrafa de capacidade igual pode apresentar preço de R\$ 50,00 (BERRY, 2007).

3.3.2 Legislação brasileira para o hidromel

O Hidromel, de acordo com o Decreto n. 6871 de 4 de julho de 2009, “... *é a bebida com graduação alcoólica de 4 a 14 % em volume, 20°C, obtida pela fermentação alcoólica de solução de mel de abelha, sais nutrientes e água potável*” (BRASIL, 2009).

A Instrução Normativa n. 34 de 29 novembro de 2012 estipula os parâmetros legais para o hidromel relacionados com a acidez fixa, acidez total, acidez volátil, anidrido sulfuroso, cinzas, cloretos totais, extrato seco reduzido, graduação alcoólica e o teor de açúcar, além de salientar que não é permitido o uso de açúcar (sacarose) para a produção dessa bebida (BRASIL, 2012).

Conforme este instrumento legal, o hidromel pode ser classificado em seco ou suave, de acordo a quantidade de açúcar na bebida (BRASIL, 2012).

Tabela 1- Padrões de identidade e qualidade para o hidromel

| Parâmetros | Limite mínimo | Limite máximo | Classificação |
|---|----------------------|----------------------|----------------------|
| Acidez fixa, em meq/L | 30 | --- | --- |
| Acidez total, em meq/L | 50 | 130 | --- |
| Acidez volátil, em meq/L | --- | 20 | --- |
| Cinzas, g/L | 1,5 | --- | --- |
| Graduação alcoólica, em % v/v a 20°C | 4 | 14 | --- |
| Extrato seco reduzido, g/L | 7 | --- | --- |
| Teor de açúcar, em g/L | --- | ≤ 3 | Seco |
| | >3 | --- | Suave |

Fonte: Instrução normativa nº 34, de 29 de novembro de 20

3.3.3 Preparo do mosto de mel

Os mostos de hidromel são qualificados pelo pH baixo e por uma conjugação de ácidos que têm origem no mel, os quais podem intervir a taxa de fermentação. A taxa de fermentação do hidromel resulta, sobretudo, da variedade do mel, da estirpe de levedura, da composição do meio de cultura e do pH extracelular (NAVRÁTIL M; STURDÍK E e GEMEINER P, 2001).

O mel é deficiente em nitrogênio, minerais e nutrientes importantes para o crescimento das leveduras; o que pode comprometer a fermentação alcoólica (GUPTA; SHARMA, 2009). Por isso, é necessário o emprego de suplementos nutricionais com a intenção de otimizar as condições de fermentação (MENDES-FERREIRA et. al., 2010).

Muitos aspectos são relevantes além da suplementação do mosto no andamento de um processo que possibilite a produção de hidromel de boa qualidade, com características sensoriais agradáveis e maior uniformidade no produto final. No meio destes fatores estão o tratamento do mosto e do produto final, além da seleção das leveduras que melhor se adaptem as características particulares do mosto de mel.

GUPTA e SHARMA (2009) propõe que para cada litro de mosto deve-se acrescentar 5g de ácido cítrico; 1,5 g de fosfato de monoamônio; 1g de bitartarato de potássio; 0,25 g de cloreto de magnésio e 0,25 g de cloreto de cálcio, além de 100 mg g⁻¹ de SO². O enriquecimento do mosto com sais é uma prática tecnologicamente adequada e está prevista na legislação brasileira.

No processamento do hidromel, as diluições (mel:água) mais usuais são 1:0,5; 1:1; 1:2 e 1:3. As misturas (1:0,5 e 1:1) que comportam as mais elevadas concentrações de açúcar podem ocasionar a inibição da levedura alcoólica, devido à pressão osmótica excessiva; assim, é necessário fracionar a quantidade de mel durante o processo de fermentação (SROKA; TUSZYŃSKI, 2007).

Há estudos científicos que propõe o pré-aquecimento do mosto antes da fermentação, isto é, pasteurizá-lo. Este tratamento térmico confere o aumento na vida de prateleira da bebida (UKPABI, 2006).

É importante manter o valor do pH do mosto dentro de uma faixa de 3,7 - 4,0 para iniciar a fermentação. Os aditivos indicados para o ajuste do pH são: o carbonato de cálcio, carbonato de potássio, bicarbonato de potássio, ácido tartárico, cítrico ou láctico. Os sais apresentam reação alcalina e elevam o pH do mosto; todavia, quando em abundância podem interferir negativamente no sabor (LUCIANA, 2015). A adição de ácidos orgânicos, além de reduzir o

pH do mosto, proporciona o crescimento das leveduras, contribui no controle de microrganismos contaminantes e permite o equilíbrio da acidez fixa na bebida final.

3.3.4 Processo fermentativo

O hidromel é uma bebida que possui de 4 a 14% de etanol por volume, sendo produzido por meio da fermentação ocorrida por leveduras em uma solução diluída do mosto composto de mel, obtida através da adição de uma quantidade adequada de água. O tempo fundamental para a fermentação e maturação varia desde vários meses a alguns anos, podendo ser classificado como seco, licoroso, doce e espumoso, de acordo com sua tecnologia de fabricação. É importante manter um pH baixo durante a fermentação, bem como manter o controle das necessidades nutricionais da levedura no processo fermentativo (ROLDAN et al., 2011).

Industrialmente, a fermentação ocorre nas dornas que são recipientes industriais remetida a conter o mosto (o alimento das leveduras e o fermento para a consecução do processo de fermentação alcoólica) além de proporcionar as condições como arejamento, iluminação e baixa variação de temperatura) indispensáveis ao processo para que o mesmo seja economicamente viável (HONÓRIO M, 2014).

Um dos problemas ocasionados na fermentação do mel é a falta de homogeneidade e no produto final, conseqüente de mudanças no teor de água no mel produzido em diferentes anos (GOMES T, 2008). O máximo admissível é de 20% de teor de água no mel, exceto para o mel Calluna, que é de 23%. Logo, a quantidade de água acrescentada inicialmente tem que ser adaptada para se obter o teor alcoólico pretendido no produto final (WOOD CHAPMAN & HALL, GLASGOW, 1998).

De todos os esses nutrientes relacionados pelas leveduras durante a fermentação, os compostos azotados são quantitativamente os mais relevantes, depois dos compostos carbonados, pois são essenciais para o crescimento e metabolismo das leveduras (CASELLAS G, 2005).

Em relação ao pH grande parte das leveduras empregadas em processos fermentativos possui resistência a baixos níveis de pH, uma vez que o pH predominante em fermentações varia entre 4 a 5,5. Experimentos confirmam que quanto mais ácido for o mosto, maior será a produtividade, uma vez que bactérias e outros contaminantes não permanecem em meios de baixo pH (cerca de 3 a 4) e a geração de glicerol como componente completar da fermentação é muito reduzida em meios ácidos (pH 3 a 4) (QUEIROZ JCF, et tal, 2014).

Com o intuito de beneficiar o metabolismo da levedura alcoólica, diferentes nutrientes podem ser adicionados ao mosto.

As leveduras empregue na produção de hidromel devem ser cepas utilizadas na produção de vinho ou cerveja, pois conferem aroma e sabor agradáveis à bebida. Há diversas cepas diferentes de leveduras enológicas, maior parte da espécie *Saccharomyces cerevisiae* (SCHULLER; CASAL, 2005). Entretanto, as leveduras para a produção de hidromel precisam apresentar uma certa habilidade de propagação em meios com elevada concentração de açúcares (PEREIRA et al., 2009).

De acordo com Sroka e Tuszynski (2007), a fração de levedura seca ativa para iniciar a fermentação não pode ser inferior a 0,5 % m/v, Gupta e Sharma (2009) orientam a concentração de 3 a 5 % m/v. Recomenda-se a utilização de fermento seco na concentração entre 0,20 e 0,30 g L⁻¹. Note-se que as proporções de inoculo recomendadas pelos diversos autores são altamente discrepantes; a diferença da maior quantidade de para a menor chega a 250 vezes.

Pereira et al. (2014) informam que quanto maior o inoculo (108 UFC mL⁻¹), menor será o tempo de fermentação; entretanto, a clarificação do hidromel é prejudicada. Em contrapartida, estes autores afirmam que o uso de menor concentração de inoculo (105 UFC mL⁻¹) resultam em uma bebida com maior concentração de compostos que interferem benéficamente no perfil aromático, tais como álcoois superiores, ésteres, fenóis voláteis.

O processo fermentativo mais comum é descontínuo e a temperatura indicada é de 18°C (GUPTA; SHARMA; 2009).

3.3.5 Cinética da fermentação alcoólica

O estudo da cinética dos processos é fundamental para o entendimento das transformações que ocorrem durante a fermentação, e tem o objetivo básico de quantificar a taxa de crescimento celular, de consumo de substrato e formação de produtos (VIEGAS, 2003).

A taxa de fermentação muda constantemente à medida que o substrato é consumido e o produto é formado, tornando a cinética de fermentação alcoólica um estudo complexo. Para retratar esse processo fermentativo, o perfil de modelo mais encontrado na literatura é o não estruturado e não segregado (mouling; boze; galzy, 1980).

O aprendizado da cinética dos processos fermentativos possui dois grandes objetivos: (1) verificar as velocidades das transformações que ocorrem durante o processo e (2) estudar a ação de fatores nas velocidades das transformações; assim, a cinética dos processos

fermentativos possibilita o conhecimento das conjunturas mais favoráveis de se regular e controlar um processo fermentativo (BORZANI, 1985).

O estudo cinético de um processo de biotransformação é significativo, pois, concede a aquisição de conhecimento básico do processo. A cinética de biotransformação está relacionada com a velocidade de consumo de substrato e de aparecimento de produto e no caso mais específico de processos de fermentação utilizando leveduras, também com a velocidade de crescimento celular e o efeito que estas sofrem por influência das condições do meio em processo (ANDRIETTA, 2007).

4 METODOLOGIA

Neste tópico estão descritas as metodologias utilizadas no desenvolvimento deste trabalho, como as caracterizações físico-química dos méis, o estudo da produção da bebida fermentada por meio da fermentação alcoólica utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, e a avaliação cinética no decorrer do processo fermentativo.

4.1. Área de estudo

O trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal da Paraíba Campus I, no Laboratório de Produtos e Fermentos destilados (LPFD), no Laboratório de Certificação de Cachaça e Biotecnologia Industrial (LCCBI) e no Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA), localizados no Centro de Tecnologia.

4.2. Obtenção das amostras

As amostras foram adquiridas em diferentes pontos de vendas no comércio local da cidade de João Pessoa, no estado da Paraíba. Foram obtidas 2.000 g de cada amostra para realização dos experimentos que foram conduzidos com 3 (três) marcas de mel industrializado (marca 1, 2 e 3) em 3 repetições. Os resultados obtidos foram comparados com os padrões de qualidade da legislação brasileira.

Figura 2- Amostras de méis industrializados de marcas distintas



Fonte: Autora (2016)

4.3 Caracterização das amostras dos méis

Os parâmetros analisados foram: sólidos solúveis totais, pH, acidez total, acidez volátil, acidez fixa, umidade, cinzas, condutividade elétrica, hidroximetilfurfural – HMF, e atividade de água.

As análises seguiram os métodos especificados pela legislação brasileira, que se encontram relatados na Instrução Normativa no 11, de 20 de outubro de 2000, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000), também de acordo com às diretrizes e metodologias recomendadas pelas normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005).

4.3.1 Sólidos solúveis totais (°Brix)

Foi determinado por um refratômetro de bancada do tipo ABBE, pelo método refratométrico pela leitura direta, de acordo com o método nº 932.12 da AOAC, sendo os resultados expressos em ° Brix.

4.3.2 pH

A determinação do pH das amostras ocorreu de forma direta onde 50 mL de cada amostra foi homogeneizado, e o pH das amostras determinado diretamente pelo potenciômetro de bancada devidamente calibrado com as soluções tampões pH 7,0 e 4,0 a 20 °C, segundo técnica estabelecida pela AOAC (1992). Sendo realizadas pelo menos 3 medidas para cada amostra, o valor final foi dado pela média aritmética simples das medidas.

4.3.3 Acidez Total

Para a medida da acidez total de cada amostra, foram pesadas 5 g em cápsulas de porcelana, previamente taradas. Em seguida, 10 mL de água destilada foram adicionados. Para a titulação com NaOH 1N, adicionou-se 3 gotas da solução alcoólica de fenolftaleína a 1%. (IAL, 2008).

Cálculo:

Acidez total= $[V \times f] / P$

Onde,

V = volume da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio

P = g da amostra usado na titulação

Os teores de acidez dos méis foram obtidos por titulação do filtrado com NaOH 0,1N, segundo a técnica estabelecida pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), sendo os resultados expresso em meq.kg-1.

4.3.4 Acidez Fixa

Colocou-se 5 g da amostra em cápsula de porcelana, diluindo com 10 mL de água destilada, deixando-a evaporar em banho maria até secar. Repetiu-se 10 mL de água destilada, evaporando-a e secando-a novamente. Quando esfriada, transferiu-se para erlenmeyer de 250 mL com auxílio de 100 mL de água previamente fervida e fria. Foi adicionado 3 gotas de fenolfetaleína a 1% e posteriormente titulou-se com solução de NaOH 0,1 N até coloração rósea persistente por 30 segundos.

Cálculo:

$$\text{Acidez fixa \%} = [V \times f \times 60] / P$$

V = volume da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação,

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação

P = peso da amostra

4.3.5 Acidez Volátil

Calculou-se pela diferença do conteúdo de acidez total titulável e da acidez fixa: Acidez volátil % = acidez total % - acidez fixa %.

4.3.6 Umidade (%)

As amostras foram analisadas segundo as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005), por secagem à pressão atmosférica.

O resultado da umidade foi obtido pelo seguinte cálculo:

$$\text{Umidade} = \frac{100 \times N}{P}$$

Onde:

N= números de gramas de umidade (perda de massa em g)

P= número de gramas da amostra

4.3.7 Cinzas (Sais Minerais) (%)

Para a determinação de cinzas do mel, necessitou-se de um pré-tratamento das amostras por ser um alimento líquido e viscoso, apresentando efeitos de borbulhamento, ocasionando o lançamento da amostra durante o aquecimento. O pré-tratamento das amostras foi constituído do aquecimento de 120°C por 1 hora em banho-maria para evitar perdas. Posteriormente, a amostra foi carbonizada em uma chapa aquecedora e depois incinerada em mufla a 550°C até um peso constante, de acordo com as Normas do Instituto Adolfo Lutz.

A quantidade de cinzas foi medida conforme o seguinte cálculo:

$$\text{Cinzas} = \frac{100 \times N}{P}$$

Onde:

N= n° de g de cinzas

P= n° de g da amostra

4.3.8 Condutividade elétrica (S/cm)

Obtida em uma solução de 20% de matéria seca de mel a 20°C, determinado com condutivímetro de bancada previamente calibrado (BOLETIN OFICIAL ESPAÑOL, 1986).

4.3.9 Hidroximetilfurfural – HMF (mg/Kg)

A análise deste composto é feita no mel para se examinar a adulteração com açúcar comercial, estocagem inadequada ou superaquecimento. Para realização desta análise foi utilizado o método por reação cromática chamada de Reação de Jagerschmidt, onde adiciona-se em gral de porcelana cerca de 10 g de mel com 10 ml de acetona, decanta-se o solvente e transfere cerca de 2-3 ml para um tubo de ensaio contendo igual volume de HCl conc., esfria-se a mistura em um banho de gelo ou água corrente.

O aparecimento de forte coloração violeta indica presença de açúcar comercial, no caso do mel natural, pode surgir uma leve coloração âmbar que se torna violácea depois de algum tempo.

4.3.10 Atividade de água (Aw)

Para avaliação da atividade de água (Aw), utilizou-se o analisador de atividade de água Labmaster, que utiliza a técnica de determinação através de leitura direta da umidade relativa de equilíbrio (atividade de água), utilizando um sensor eletrolítico sem histerese.

4.4 Análise estatística dos dados

Para a análise estatística dos dados, consideraram-se, como tratamentos, os 3 méis de diferentes origens, tendo 3 repetições de cada tratamento, aplicando-se o Delineamento Inteiramente Casualizado, com o teste de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, pelo programa ASSISTAT 2000.

4.5 Legislação brasileira

Os valores indicados nas normas vigentes (BRASIL, 2000) podem ser verificados no Tabela 2 e foram estabelecidos como requisitos para consumo humano do mel, destinado ao comércio nacional e internacional.

Tabela 2- Padrões de identidade e qualidade para o mel

| Parâmetros | Limite mínimo | Limite máximo |
|--|----------------------|----------------------|
| Açúcares redutores (%) | 65 | --- |
| Umidade (%) | --- | 20 |
| Minerais (%) | --- | 0,6 |
| Acidez (mEq.kg⁻¹) | --- | 50 |
| Hidroximetilfurfural (mg.kg⁻¹) | --- | 60 |
| Sacarose (%) | --- | 6 |
| Cor | Incolor | Pardo-escuro |

Fonte: Adaptado de Brasil (2000)

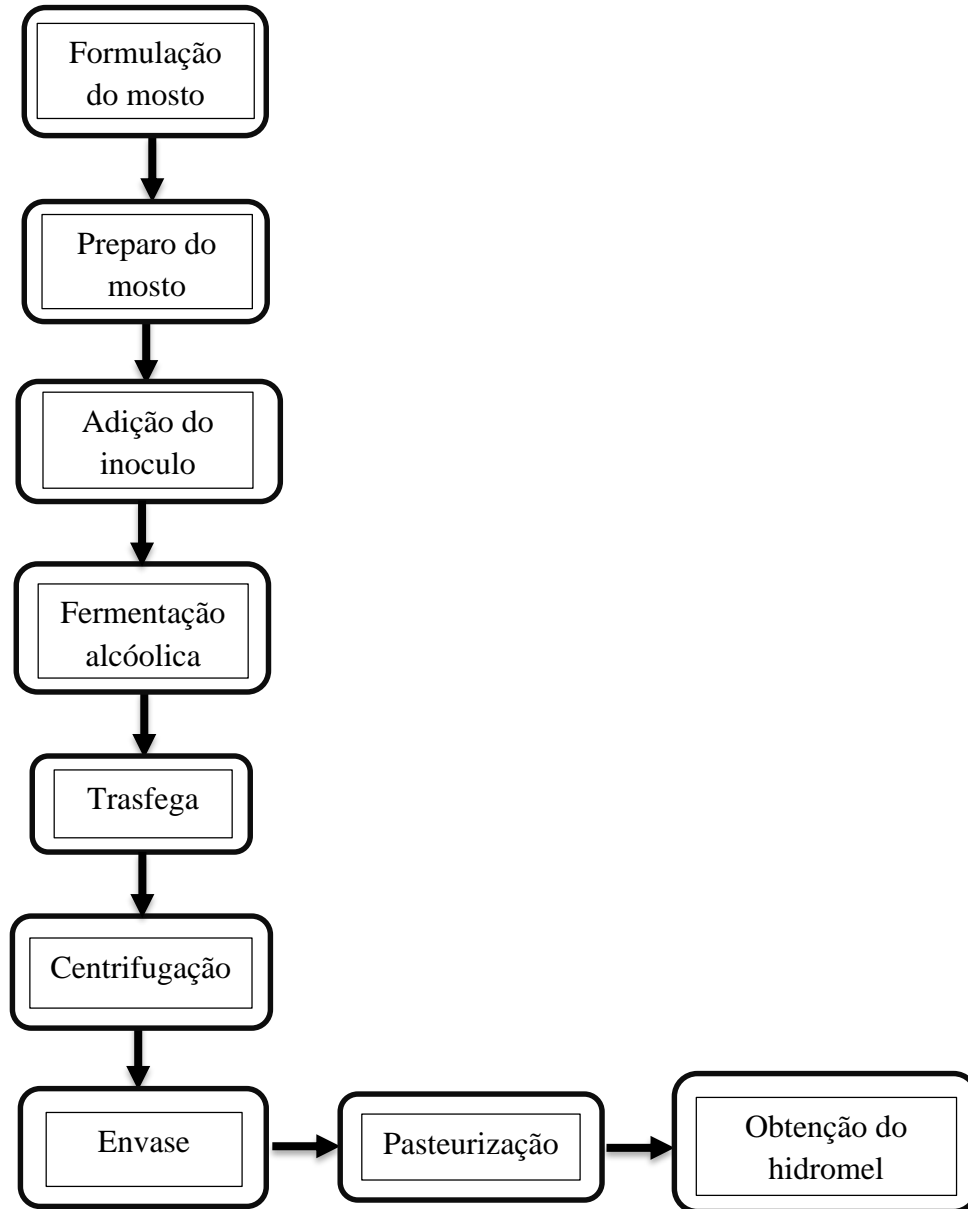
4.6 Elaboração do hidromel

Com graduação alcoólica compreendida em torno de 4 a 14% em volume, o hidromel é obtido pela fermentação alcoólica de uma solução de mel de abelhas, leveduras, sais minerais e água potável. O preparo do hidromel segue as etapas mostradas na figura 3. Na elaboração do hidromel são necessários alguns requisitos como, manter a estabilidade do pH do mosto dentro de uma faixa de 3,7 a 4,0 para que ocorra o início da fermentação, outro fator relevante é a temperatura durante a fermentação, tendo cada tipo de levedura uma temperatura ótima apropriada, no caso da levedura *S. cerevisiae* compreende entre 20 e 30° C as taxas mais elevadas de fermentação. O processo fermentativo utilizado é o descontínuo.

A fermentação é encerrada teoricamente com a estabilização do teor de sólidos solúveis do fermentado. Após a fermentação, cessa o desprendimento do CO₂, o que favorece a sedimentação de partículas em suspensão, resultando em um fermentado mais límpido.

A Figura 3 apresenta o fluxograma para obtenção do hidromel.

Figura 3- Fluxograma para obtenção do fermentado (hidromel)



Fonte: Autora (2016)

4.6.1. Formulação do Mosto

Para a elaboração de hidromel, foram selecionados três méis de marcas distintas, com origem floral e características sensoriais diferentes, podendo variar quanto à cor de pardo claro a pardo escuro. Para a fermentação alcoólica, foi utilizado fermento comercial liofilizado da marca Saf-instant (*Saccharomyces cerevisiae*) usado na indústria de panificação.

4.6.2. Preparo do Mosto

O mosto foi preparado através da diluição do mel em água até obter 20 °Brix, determinado por um refratômetro de bancada.

Os percentuais dos méis utilizados foram obtidos através dos cálculos abaixo:

$$M_{\text{mel}} \times \text{Brix}_{\text{mel}} = M_{\text{mosto}} \times \text{Brix}_{\text{esperado}}$$

Onde: M_{mel} = massa de mel que foi utilizada no processo;

Brix_{mel} = Brix inicial do mel, determinado com o auxílio do refratômetro;

M_{mosto} = quantidade pré-determinada de mosto que se desejava obter.

Para obtenção de 3.000 mL de mosto com 20 °Brix para a fermentação, foram pesados 743, 745 e 764 gramas de mel respectivamente para as marcas 1,2 e 3. Tendo as marcas 1, 2 e 3 teores de sólidos solúveis totais 80,75, 80,50 e 78,50 °Brix, respectivamente.

Para o cálculo da quantidade de água a ser utilizada para o processo de diluição, foi utilizada a seguinte equação:

$$M_{\text{água}} = M_{\text{mosto}} - M_{\text{mel}}$$

Onde: M_{mel} = massa de mel que foi utilizada no processo;

M_{mosto} = quantidade pré-determinada de mosto que se desejava obter;

$M_{\text{água}}$ = quantidade de água utilizada para o processo de diluição.

A quantidade de água utilizada para o processo de diluição foram 2.257, 2.255 e 2.236 mL, respectivamente para os méis de marca 1, 2 e 3.

4.6.3. Adição do inóculo

As leveduras empregadas no processo de fermentação do hidromel pertencem ao gênero *Saccharomyces*. Elas devem apresentar alta velocidade de fermentação, tolerância à elevada concentração de álcool, açúcares e ácidos orgânicos, elevado poder flocculante, além de produzir compostos aromáticos que contribuam com o aroma e sabor da bebida.

Neste trabalho as leveduras empregadas no processo de fermentação foi a *Saccharomyces cerevisiae* proveniente de fermento biológico granulado da marca Saf-instant.

Com uma proporção de 18 g de levedura seca/L, foram utilizados para inoculação 54 gramas do fermento biológico (*S. cerevisiae*), visto que o volume do trabalho é de 3.000 mL para cada biorreator. Assim a levedura foi previamente dissolvida em certa quantidade de mosto e depois misturada ao restante do mosto, sob agitação por 1 minuto para uma melhor diluição.

4.6.4. Fermentação alcoólica

O processo de fermentação alcoólica foi realizado em batelada em biorreatores artesanais de polietileno (Figura 4) com capacidade de 4 litros.

A fermentação teve duração de 35 horas, acompanhada diariamente até a estabilização do teor de sólidos solúveis (°Brix).

Durante a fermentação alcoólica foram retiradas alíquotas de 65 mL do mosto, assepticamente, durante os intervalos (Tabela 3), para realização das análises de pH, temperatura, °Brix (sólidos solúveis totais), acidez total, quantificação do teor alcoólico, biomassa e açúcares redutores totais.

Com o final da fermentação alcoólica, cessou o desprendimento do gás carbônico, o que favorece a sedimentação de partículas em suspensão, tais como células de levedura e sólidos insolúveis, resultando em um fermentado mais límpido. A efetuação da descuba é indispensável ao processo pois consiste na separação do fermentado da borra decantada (levedura e sólidos insolúveis).

Tabela 3- Intervalos para retiradas das alíquotas dos fermentados para as análises

| Horário da leitura | 09:00 | 17:00 | 01:00 | 08:30 | 16:00 | 20:00 |
|--------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Tempo (horas) | (00:00) | (08:00) | (16:00) | (23:30) | (31:00) | (35:00) |

Fonte: Autora (2016)

Figura 4- Processo de fermentação alcoólica dos hidroméis



Fonte: Autora (2016)

4.6.5 Análises de acompanhamento da fermentação

Durante a fermentação acompanhou-se visualmente a atividade da levedura pela frequência das bolhas de gás carbônico gerado pelo processo fermentativo. Também foi realizado acompanhamento mediante análises físico-químicas (pH, temperatura, °Brix, acidez, teor alcoólico (°GL), biomassa e açúcares redutores totais), durante a fermentação.

Para a obtenção do teor de sólidos solúveis totais (°Brix) durante a fermentação utilizou-se um refratômetro de bancada do tipo ABBE, pelo método de leitura direta, de acordo com o método nº 932.12 da AOAC.

O teor alcoólico (concentração de etanol) foi determinado utilizando-se o ebuliômetro. Inicialmente foi realizada a calibração do equipamento com água, até a temperatura de ebulição, a qual serve de referência para o etanol. Com a temperatura de ebulição da água e da amostra, determinou-se a concentração de etanol, utilizando a régua de conversão que acompanha o equipamento, que nos fornece a conversão da temperatura de ebulição do fermentado para o volume de álcool presente no fermentado. Para realização desta análise utilizou-se 50 mL do fermentado.

A determinação do pH dos fermentados ocorreu de forma direta pelo potenciômetro de bancada devidamente calibrado com as soluções tampões pH 7,0 e 4,0 a 20 °C, segundo técnica estabelecida pela AOAC (1992), sendo realizadas pelo menos 3 medidas para cada amostra.

A temperatura dos fermentados ocorreu de forma direta, ou seja, emergiu-se o termômetro dentro dos fermentados, fazendo a higienização a cada medição, evitando transferência de um fermentado para o outro.

A determinação de açúcares redutores totais (ART) foi pela análise espectrofotométrica, baseada no emprego do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). Primeiramente, realizou-se diluição de algumas das amostras (Tabela 4), devido ao baixo teor de sólidos solúveis totais. Para próxima etapa, realização da hidrólise, foram utilizados 24 tubos de ensaio, 1 para cada fermentado. Foram adicionados em cada tubo de ensaio 1 mL da amostra (diluída ou não, referente a cada horário previamente determinado para análise de acompanhamento da fermentação) + 1 mL de ácido (HCl) e para o “branco” (amostra de referência) utilizou-se 1 mL de água destilada + 1 mL de HCl. Os tubos foram levados para banho-maria com água em ebulição (100 °C) durante 5 minutos para agilização da hidrólise, ao término foram imergidos em banho gelo para esfriamento da solução. Ao serem retirados, adicionou-se 2 mL de hidróxido de sódio 2N em cada tubo para neutralização, agitando vigorosamente. Transferiu-se 0,5 mL da amostra + 0,5 mL do reagente DNS em cada tubo e para o “branco” utilizou-se 0,5 mL de água destilada + 0,5 mL de DNS. As misturas foram agitadas vigorosamente. Os tubos foram levados novamente para banho-maria com água em ebulição (100 °C) durante 5 minutos para facilitar a dissolução e quebra do açúcar, uma vez que o DNS precisa agir com o açúcar para gerar a coloração. A reação foi interrompida ao imergir os tubos em banho de água fria. As misturas foram diluídas com 4 mL de água destilada. Após homogeneização, realizou-se a leitura da intensidade da cor em espectrofotômetro a 540 nm, contra uma amostra de calibração (branco).

Tabela 4 – Valores utilizados na diluição das amostras em seus respectivos tempos de retirada

| | 09:00 | 17:00 | 01:00 | 08:30 | 16:00 | 20:00 |
|--------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | Diluição | Diluição | Diluição | Diluição | Diluição | Diluição |
| | (mL) | (mL) | (mL) | (mL) | (mL) | (mL) |
| Fermentado 1 | 1,6 da amostra + 98,4 de água | 1,6 da amostra + 98,4 de água | 2,4 da amostra + 97,6 de água | 2,4 da amostra + 97,6 de água | 6,5 da amostra + 18,5 de água | Não houve diluição |
| Fermentado 2 | = | = | = | = | = | 6,5 da amostra + 18,5 de água |
| Fermentado 3 | = | = | = | = | Não houve diluição | Não houve diluição |

Fonte: Autora 2016

Para determinação da acidez durante a fermentação, utilizou-se 1 ml de cada fermentado e 25 mL de água destilada. Adicionou-se 2 gotas do indicador fenolftaleína a 1% na solução. A solução foi titulada com solução de hidróxido de sódio 0,1 N, até coloração rósea permanente por 30 segundos. Os cálculos foram realizados através da equação abaixo, sendo v = volume da amostra (mL); n = volume da solução de NaOH gasto na titulação (mL) e N = Normalidade da solução de NaOH.

$$Acidez = \frac{1000 \times n \times N}{v}$$

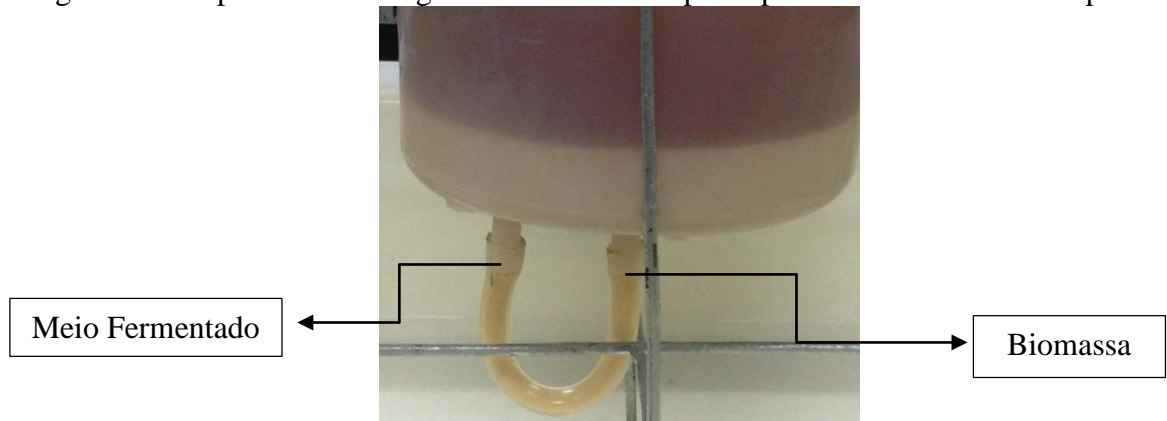
Para análise de biomassa utilizou-se tubos de eppendorf, com capacidade de 1,5 mL cada, previamente colocados na estufa por 24 horas, depois no dessecador por 30 minutos, posteriormente pesados. Os eppendorfs foram preenchidos com os fermentados retirados a cada 8 horas, em seguida foram colocados no centrifugador por cerca de 10 min, com uma rotação média de 3.000 rpm. Em seguida, realizou-se a retirada do sobrenadante e o material foi levado para estufa a 105 °C por 24 h. Após decorrido esse tempo, os eppendorfs foram retirados da estufa e deixados no dessecador por cerca de 30 minutos e posteriormente pesados. O cálculo para determinar a biomassa, foi feito por diferença entre peso dos eppendorfs com a biomassa ($M1$) e o peso dos eppendorfs vazios em gramas ($M2$), dividida pelo volume (V) da amostra utilizado (1,5 mL), multiplicado por 1000 para obter o valor em $g L^{-1}$, conforme a equação a baixo:

$$Concentração\ de\ biomassa = \frac{M1 - M2}{V\ (mL)} \times 1000$$

4.6.6 Trasfega

O líquido foi transferido para outro recipiente, separando-o da borra depositada no fundo do recipiente. O processo de transferência do material fermentado após a descuba foi através do complexo de descarga dos biorreatores, o qual é composto por duas válvulas de escape, observado na figura 5, viabilizando a separação entre massa celular e o fermentado.

Figura 5- Complexo de descarga do biorreator composto por duas válvulas de escape



Fonte: Autora (2016)

4.6.7 Centrifugação

Os fermentados foram centrifugados em centrífuga da marca Excelsa II, Modelo 206 BL (Figura 6), com a velocidade de 3000 rpm por um período de 10 min.

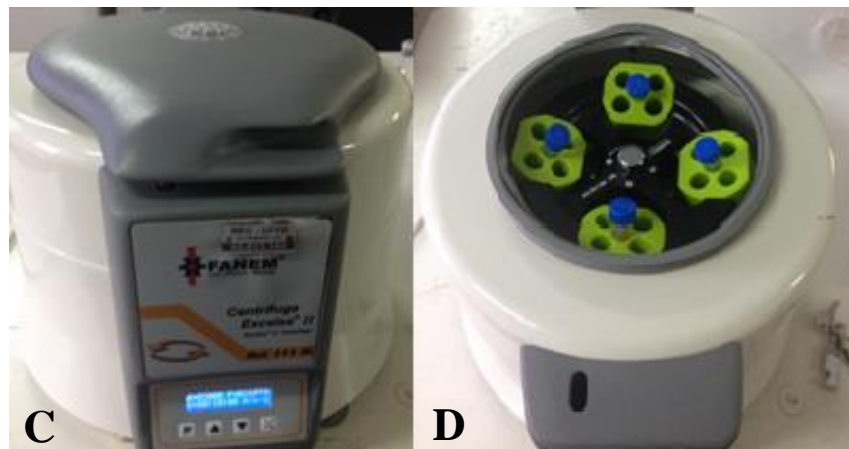


Figura 6- C: Centrífuga da marca Excelsa II, Modelo 206 BL; D: Fermentado na centrífuga para processo de análise clarificação

4.6.8 Pasteurização

O hidromel clarificado foi adicionado nas garrafas de vidro, previamente sanitizadas, hermeticamente fechadas para não existir problemas de entrada de ar, água e outros materiais que interferiam nas amostras, e pasteurizado a 65°C por cerca de 30 minutos (Figura 7) com o objetivo de cessar a fermentação e eliminar possíveis microrganismos patogênicos. Após, o

hidromel ser pasteurizado, foi resfriado em banho de gelo para que ocorresse o choque térmico, conforme a figura 7.



Figura 7-E: Hidromel em banho-maria a 65°C; F: Hidromel no banho de gelo

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Análises físico-químicas dos méis

Os resultados dos parâmetros físico-químicos analisados nas 3 (três) amostras de méis industriais, provenientes de Campina Grande/Paraíba, Mossoró/Rio Grande Norte e Maceió/Alagoas, podem ser observados no quadro 1.

Quadro 1– Resultados das análises físico-químicas dos méis das marcas 1, 2 e 3

| Parâmetros analisados | Legislação Brasileira | Legislação do Mercosul | Codex Alimentarius | Média | | Desvio padrão |
|---|-----------------------|------------------------|--------------------|-------|---------------------|---------------|
| | | | | Mel 1 | Mel 2 | |
| Umidade (%) | Máximo 20 | Máximo 20 | Máximo 20 | Mel 1 | 15,96 ^b | 0,004 |
| | | | | Mel 2 | 16,53 ^b | 0,004 |
| | | | | Mel 3 | 18,00 ^a | 0,003 |
| Cinzas (%) | Máximo 0,6 | - | - | Mel 1 | 0,238 ^a | 0,079 |
| | | | | Mel 2 | 0,934 ^a | 0,432 |
| | | | | Mel 3 | 0,383 ^a | 0,147 |
| pH | 3,30 - 4,60 | - | - | Mel 1 | 2,76 ^c | 0,021 |
| | | | | Mel 2 | 3,87 ^b | 0,029 |
| | | | | Mel 3 | 4,41 ^a | 0,012 |
| Acidez Total (meq kg ⁻¹) | Máximo 50 | Máximo 50 | Máximo 50 | Mel 1 | 29,7 ^c | 0,47 |
| | | | | Mel 2 | 41,1 ^a | 1,26 |
| | | | | Mel 3 | 36,7 ^b | 0,45 |
| Acidez Fixa (meq kg ⁻¹) | - | - | - | Mel 1 | 15,7 ^a | 0,9 |
| | | | | Mel 2 | 16,9 ^a | 0,89 |
| | | | | Mel 3 | 16,5 ^b | 0,56 |
| Acidez volátil (meq kg ⁻¹) | - | - | - | Mel 1 | 13,9 ^c | 0,9 |
| | | | | Mel 2 | 23,2 ^a | 0,9 |
| | | | | Mel 3 | 20,2 ^b | 0,59 |
| Condutividade elétrica (µS cm ⁻¹) | - | - | Máximo de 800 | Mel 1 | 270,5 ^c | 0,24 |
| | | | | Mel 2 | 1461,6 ^a | 0,41 |
| | | | | Mel 3 | 468,7 ^b | 1,24 |
| Atividade de Água | Máximo 0,6 | - | - | Mel 1 | 0,55 ^b | 0,01 |
| | | | | Mel 2 | 0,59 ^a | 0,002 |
| | | | | Mel 3 | 0,61 ^a | 0,003 |

Fonte: Dados da pesquisa

Obs.: médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de tukey a nível de 5% de probabilidade

O teor de umidade é o principal fator determinante da viscosidade e fluidez do mel, além de ser indicativo importante da tendência à fermentação, não podendo ultrapassar valores acima de 20% (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS, 2001), devido à facilidade de desenvolvimento de certos microrganismos responsáveis pela fermentação (BERA; MURADIAN, 2007). A umidade variou de 15,96 a 18,0% entre os três méis de marcas distintas, conforme demonstrado no Quadro 1. Houve diferença significativa, pelo teste de Tukey a nível de 1% entre os méis de marcas 1 e 2 em relação a marca 3, entretanto todos apresentam-se dentro do limite permitido pela legislação brasileira, permitindo no máximo 20% (BRASIL, 2000). Azeredo et al (2003) analisando as propriedades físico-químicas dos méis brasileiros encontraram uma variação de 18,59 a 19,58% no teor de água em suas amostras. Marchini et al. (2005) analisaram amostras de méis e os resultados indicaram uma média de 19,10% de umidade. Amostras de méis pesquisados por Moreti et al. (2009) apresentaram o valor médio de 17,4% com um intervalo de variação de 15,0 a 20,3%, sendo os resultados encontrados pelos autores próximos aos encontrados neste trabalho.

O teor de cinzas expressa a riqueza do mel em minerais e se constitui em uma característica bastante utilizada para verificação de qualidade. O teor de cinzas depende da composição do néctar da espécie vegetal predominante em sua formação. O tipo de solo em que a planta de origem do néctar está localizada também influencia a quantidade de minerais presentes nas cinzas (ALMEIDA, 2002). De acordo com a análise de variância apresentada no Quadro 1, não existe diferença significativa entre os valores médios das cinzas para as amostras de méis a nível de 1% de probabilidade, pelo teste de Tukey. Os valores médios das amostras encontram-se dentro da norma vigente, exceto a amostra da marca 2, apresentando valor superior ao máximo permitido, indicando que os méis mais escuros possuem um teor de cinzas mais elevados do que os méis mais claros (RODRIGUES, 2005). Barros et al. (2010) e Schlabit et al. (2010) reportaram valores de cinzas variando de 0,09 a 0,54%. Silva et al. (2004) mencionaram percentuais de cinzas bem inferiores aos méis dos entrepostos estudados, para uma variação de 0,06 a 0,14%, enquanto que Mendonça et al. (2008) observaram valores entre 0,04 e 1,02%, estando os valores reportados pelos autores semelhantes ao verificado neste estudo.

Embora o pH não seja indicado atualmente como análise obrigatória no controle de qualidade dos méis brasileiros, mostra-se útil como variável auxiliar para avaliação da qualidade (SILVA et al., 2004). Com relação ao pH, os valores obtidos neste estudo apresentaram diferença significativa entre as amostras a nível de 1% de probabilidade, pelo teste de Tukey. A amostra de mel da marca 1 apresentou um valor inferior ao intervalo

determinado pela legislação brasileira. Valores semelhantes foram encontrados por Welke et al. (2008) e Lacerda et al. (2010), já Sodré et al. (2007) reportaram para méis de *A. mellifera* faixa de variação um pouco inferior, correspondendo a 3,36 a 3,78, e Silva et al. (2004) mencionaram uma faixa de variação bem maior, de 3,54 a 5,30. Variações observadas no pH, segundo (MOURA, 2010), se devem, provavelmente, a particularidades da composição florística nas áreas de coleta, uma vez que o pH do mel pode ser influenciado pelo pH do néctar.

A origem da acidez do mel pode estar associada à variação dos ácidos orgânicos causada pelas diferentes fontes de néctar, pela ação da enzima glicose-oxidase que origina o ácido glucônico ou ainda, pela ação das bactérias durante a maturação do mel. Pela Legislação Vigente (BRASIL, 2000), o mel não deve ultrapassar o valor de 50 miliequivalentes de acidez/kg de mel. A acidez total apresentou valores entre 29,7 a 41,10 meq kg⁻¹. Constata-se que todas as amostras apresentaram diferença estatística significativa a 1% de probabilidade pelo teste de Tukey, entretanto todos apresentam-se dentro do limite permitido pela legislação brasileira. A acidez total média obtida nesta pesquisa apresentou-se valores semelhantes aos resultados de Sodré et al. (2007) que encontraram uma faixa de variação de 10 a 42 mEq kg⁻¹, já Bertoldi et al. (2007), reportaram uma faixa de variação bem mais ampla, correspondendo a 18,13 a 61,44 mEq kg⁻¹, e Mendonça et al. (2008) apresentou valores entre 15,1 a 47,0 mEq kg⁻¹.

A condutividade elétrica é considerada critério para a determinação botânica do mel e atualmente substitui a análise de teor de cinzas, pois tais medições são proporcionais ao teor de cinzas na acidez do mel (ALVES et al., 2005). Constata-se que todas as amostras apresentaram diferença estatística significativa a 1% de probabilidade pelo teste de Tukey, tendo as marcas 1 e 2 apresentado valores dentro do limite permitido pelo Codex Alimentarius. A amostra da marca 3 obteve valor acima do limite máximo permitido pela norma vigente. SODRÉ *et al.* (2003) constataram valores de 271,67 a 1634 $\mu\text{S cm}^{-1}$ e Bogdanov (1999) de 154,67 a 253,33 $\mu\text{S cm}^{-1}$, os valores supracitados estão dentro da faixa de variação encontrada no presente estudo.

A água disponível, que determina atividade de água (a_w), é o fator que influencia na estabilidade microbiológica do mel (BRUNELLI, 2015). No presente estudo as amostras de marcas 1 e 2 diferiram estatisticamente das amostras de marca 3 pelo teste de Tukey a nível de 1%. As marcas 1 e 2 apresentaram valores de atividade de água dentro do estabelecido pela legislação, onde $a_w \leq 0,60$, mostrando assim, que são biologicamente estáveis. Em contrapartida o mel da marca 3 apresentou valor pouco acima do estabelecido. Segundo Iorlina e Fritz (2005), a atividade de água no mel é de 0,5 a 0,6, e de acordo com os estudos realizados

por Coultate (2006) as amostras apresentaram com valores de 0,54 a 0,62, dados próximos ao encontrado neste trabalho.

Pequenas quantidades de HMF são encontradas em méis recém colhidos, mas valores mais significativos podem indicar alterações importantes provocadas por armazenamento prolongado em temperatura ambiente alta e/ou superaquecimento (VENTURINI, 2010) ou adulterações provocadas por adição de açúcar invertido. Portanto, o resultado foi obtido por análise qualitativa, tendo os três méis industrializados analisados apresentado uma coloração levemente âmbar (Apêndice A), o que comprovou que não possuem nenhuma adulteração.

5.2 Acompanhamento cinético fermentativo

Para melhor entendimento do processo dos fermentados, se fez necessário um estudo cinético de toda a fermentação, resultando na expectativa de delinear parâmetros que possa ser útil a um novo produto que está sendo produzido. Os dados encontrados da caracterização físico-química dos fermentados 1, 2 e 3 durante a fermentação observa-se na Tabela 5.

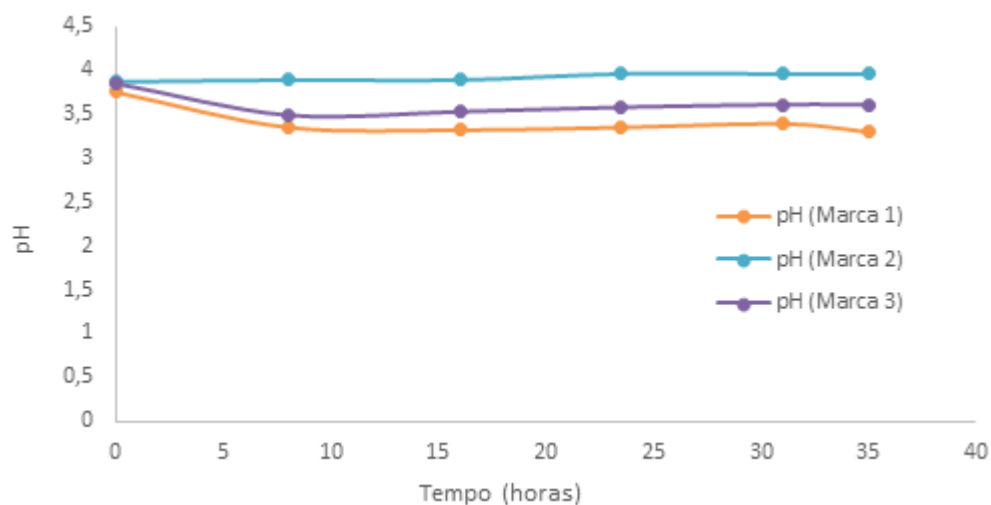
Tabela 5 – Resultados obtidos durante o processo fermentativo

| Hora | | SST (°Brix) | T(°C) | pH | Acidez (meq/L) | Massa Celular (g/L) | Teor alcoólico (GL) |
|--|---------|----------------|-------|------|-------------------|---------------------------|---------------------------|
| 9:00 Início (00:00 Horas) | Marca 1 | 19 | 29,5 | 3,75 | 76,6 | 0 | 0 |
| | Marca 2 | 19 | 30,0 | 3,87 | 86,6 | 0 | 0 |
| | Marca 3 | 19 | 29,5 | 3,85 | 93,3 | 0 | 0 |
| 17:00 (08:00 Horas) | Marca 1 | 15 | 32 | 3,35 | 51,6 | 15,5 | 4,5 |
| | Marca 2 | 12 | 34 | 3,89 | 76,6 | 23,12 | 8,9 |
| | Marca 3 | 13 | 34 | 3,49 | 58,3 | 21,77 | 7,35 |
| 01:00 (16:00 Horas) | Marca 1 | 12 | 32 | 3,32 | 71,6 | 18,0 | 7,35 |
| | Marca 2 | 8,6 | 30 | 3,89 | 66,6 | 28,2 | 8,9 |
| | Marca 3 | 7,2 | 32 | 3,53 | 80,0 | 18,5 | 9,8 |
| 08:30 (23:30 Horas) | Marca 1 | 9 | 29,75 | 3,35 | 75,0 | 12,2 | 8,95 |
| | Marca 2 | 8,50 | 28 | 3,96 | 73,3 | 22,0 | 8,9 |
| | Marca 3 | 7,25 | 28,5 | 3,58 | 76,6 | 15,77 | 8,9 |
| 16:00 (31:00 Horas) | Marca 1 | 3,5 | 29,5 | 3,39 | 60,0 | 10,7 | 10,65 |
| | Marca 2 | 4 | 28 | 3,96 | 70,0 | 21,77 | 8,9 |
| | Marca 3 | 1 | 28 | 3,61 | 80,0 | 16,88 | 10,65 |
| 20:00 (35:00 Horas) | Marca 1 | 0 | 28 | 3,30 | 71,6 | 10,3 | 11,6 |
| | Marca 2 | 4 | 27,5 | 3,96 | 75,0 | 19,12 | 8,9 |
| | Marca 3 | 1 | 27,5 | 3,61 | 70,0 | 14,88 | 10,65 |

Fonte: Dados da pesquisa

Analisando o pH do processo fermentativo observado na Tabela 5, constatou-se que houve uma pequena variação dos mesmos. Os valores de pH durante o processo variaram de 3,30 a 3,96 (figura 8), estando próximos dos valores sugeridos por Gupta e Sharma (2009) e dos valores de Munieweg em 2015, que encontrou valores de pH durante o processo fermentativo na produção de hidromel entre 3,51 a 3,70. De acordo com (Gomes,2010), pH ideal durante a fermentação seria em torno de 4,0, demonstrando assim semelhanças entre os resultados que foram encontrados durante o processo fermentativo realizado neste estudo.

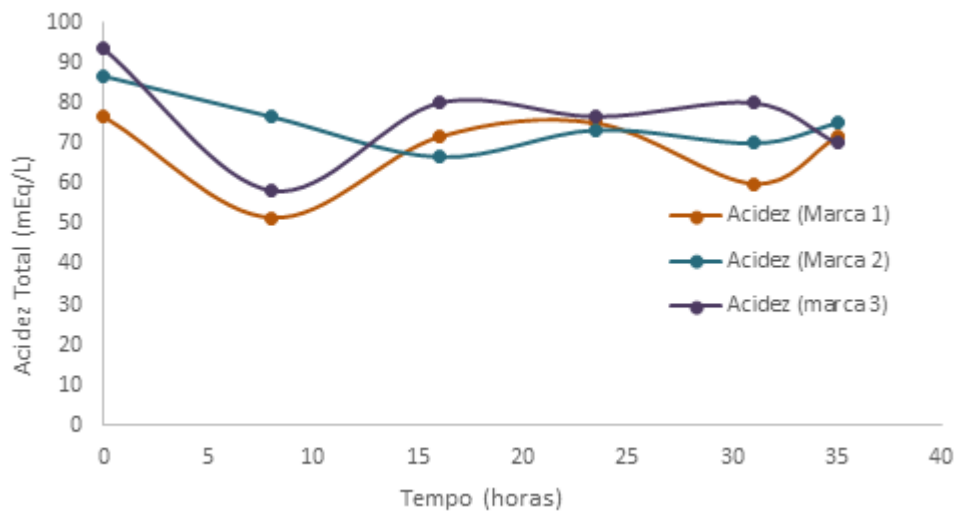
Figura 9 – Gráfico dos valores de pH dos fermentados durante a fermentação



Fonte: Dados da pesquisa

Avaliando a acidez do processo temos que nas primeiras 8 horas da fermentação o nível de acidez decresceu para todas as amostras, após 16 horas do início da fermentação houve um aumento dos valores da acidez para as marcas 2 e 3, e no decorrer das próximas horas permaneceu quase constante com pequenas oscilações, com exceção das marcas 1 e 3 após 31 horas do início da fermentação, conforme figura 9. Portanto, se mantendo num meio de acidez razoável para que a levedura possa se desenvolver, evitando assim a sua contaminação por bactérias. Os valores da acidez durante o processo variaram de 51,6 a 93,3 mEq/L. Niemes et al. (2008) e Brunelli (2015), obtiveram valores de acidez total de 94 mEq/L e 78,13 mEq/L, respectivamente.

Figura 10 – Gráfico dos valores da acidez dos fermentados durante a fermentação

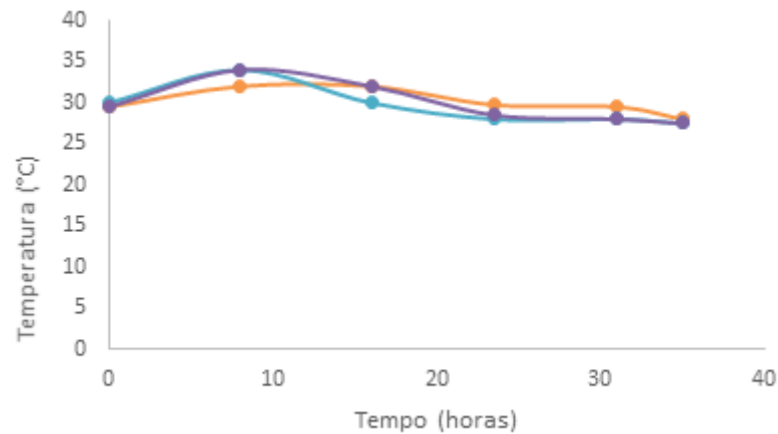


Fonte: Dados da pesquisa

Sendo o calor um catalizador para as leveduras, quanto mais próximo da temperatura máxima permitida para aquela levedura você estiver mais rápido ele vai fermentar, quanto mais fria a fermentação (respeitando o limite mínimo daquela levedura) mais lenta vai ser a fermentação. Ultrapassando o limite máximo você mata as leveduras e isso somente depois dela ter produzido um monte de coisa ruim. Ultrapassando a mínima ela provavelmente vai entrar em dormência (BRITO, 2015). A temperatura ideal para a *Saccharomyces cerevisiae* está entre 15 e 35 °C, portanto, analisando as temperaturas dos três fermentados, como observado na figura 10 abaixo, constata-se que começou com aproximadamente 30°C, porém aumentou durante a fermentação chegando a 34°C e se tornando praticamente constante durante o restante do processo, tornando assim um meio propício para a fermentação e para a levedura.

As temperaturas do presente estudo estão de acordo com o ideal sugerido pela literatura que especifica valores entre 25 e 35° C para fermentados de hidromel (Delanoe et al., 1989; Reguly, 1998; Aquarone et al., 2001). Barwal (1991), Andrade et al. (2013) e Mércia et tal. (2006), tiveram valores de temperatura de 25, 18 e 30, e 30 °C para fermentado de fruta, maçã, morango e mandacaru, respectivamente.

Figura 11 –Gráfico das temperaturas dos fermentados em relação ao tempo



Fonte: Dados da pesquisa

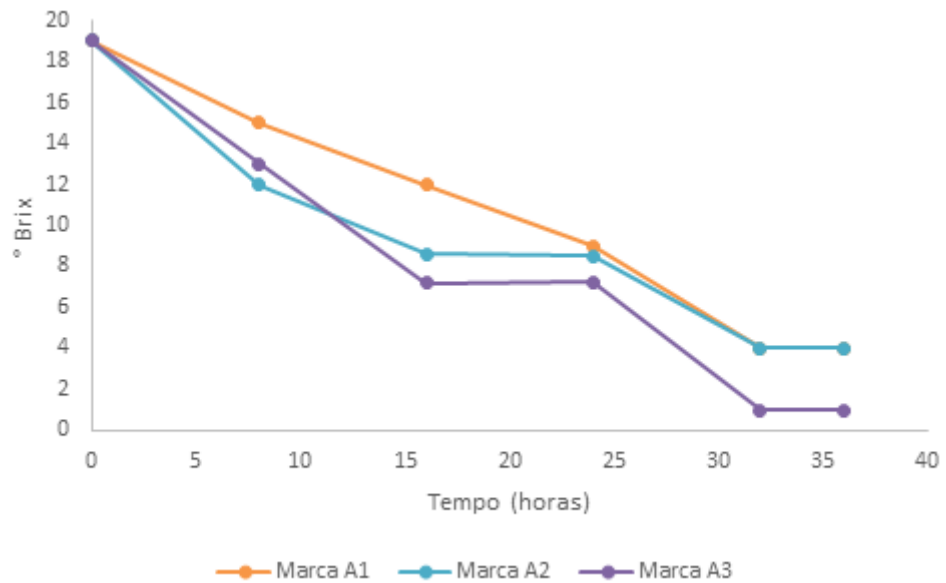
Nas Figuras 11 e 12 observa-se o consumo de açúcares e a formação de álcool ao longo do tempo de fermentação, respectivamente. Com base no gráfico da Figura 11 pode-se observar o decréscimo de sólidos solúveis ao longo do processo. O consumo de açúcar ao final da fermentação em relação aos açúcares iniciais foi de 100 %, 78,9 % e 94,7%, para as amostras 1,2 e 3, respectivamente, observando-se que o maior consumo de açúcar ocorreu no fermentado 1. Estes valores encontram-se acima do obtido por Ilha et al. (2008), onde 88,95 % dos açúcares foram consumidos.

Os teores alcoólicos dos hidroméis variaram entre 8,9 a 11,6 % v/v, estando todos dentro da faixa permitida pela legislação brasileira (BRASIL, 2009). Na figura 12, pode-se observar o acréscimo dos teores alcoólicos durante a fermentação.

Para o teor alcoólico, Queiroz (2014), obteve resultados maiores, de 17,2 %, sendo um mais elevado do que os resultados obtidos.

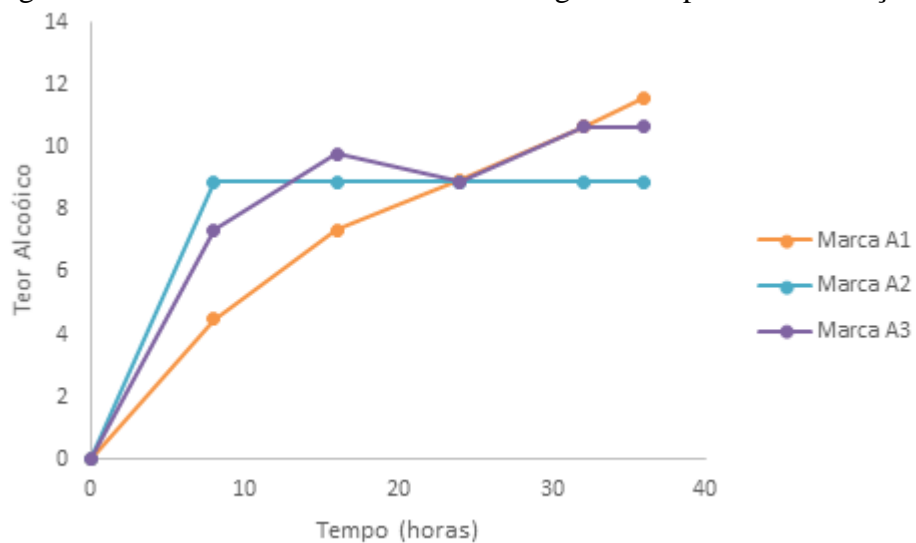
Comparando-se as amostras de hidromel é possível relacionar a diferença no teor de álcool e consumo de açúcares com a quantidade de minerais e nutrientes presentes no mel. Em um processo de fermentação, apesar do mel ser um substrato rico em hidratos de carbono, ele é pobre em quantidade de proteínas (ANKLAM, 1998; IURLINA e FRITZ, 2005).

Figura 12 – Gráfico do consumo de açúcares ao longo do tempo da fermentação



Fonte: Dados da pesquisa

Figura 13 – Gráfico do teor de álcool ao longo do tempo de fermentação



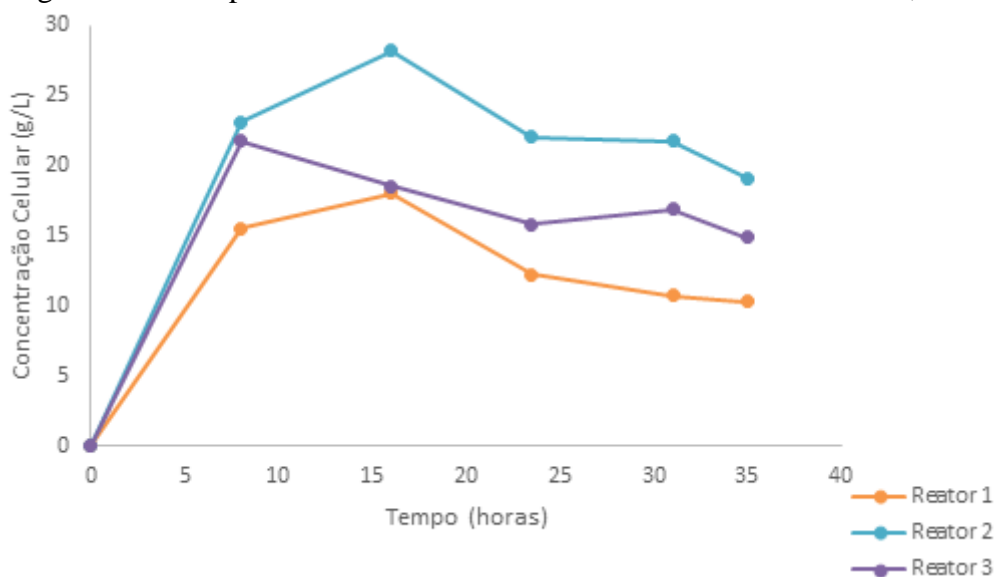
Fonte: Dados da pesquisa

Em relação ao estudo da biomassa seca, observou-se um crescimento significativo das leveduras durante 35 horas de fermentação. O aumento populacional das leveduras, vivenciaram quatro fases: fase lag, fase log, fase estacionária e fase de declínio. Na fase lag ou fase de adaptação as leveduras foram inoculadas no meio de cultura (mel + água) passando por um período de adaptação às condições físicas e aos nutrientes disponíveis. Conforme a levedura se tornou adaptada ao meio e às condições físicas, sintetizou componentes celulares e só então começou a metabolizar os nutrientes do meio e se multiplicar. Conforme as leveduras foram se reproduzindo a massa celular foi aumentado. Durante a fermentação alcoólica dos fermentados

de mel, pode-se observar nas Figuras 13 os comportamentos do crescimento celular através do tempo em cada biorreator.

Analisando a fase de crescimento da Figura 13, observa-se que a fase de crescimento celular para o biorreator 1 começa no tempo de 0 horas de fermentação, depois ocorreu o declínio a partir do tempo de 16 horas até o final da fermentação que foi no tempo de 35 horas. Em relação ao biorreator 2, observa-se na Figura 13 que a fase de crescimento celular iniciou-se no tempo de 0 horas até às 16 h, depois começou a decrescer. No biorreator 3 pode-se observar na Figura 13 que a fase de crescimento celular se iniciou no tempo de 0 horas prolongando até o tempo de 8 h, em seguida observa-se o declínio do comportamento, e uma pequena oscilação no crescimento no tempo de 31 horas. Houve um aumento celular dentro dos biorreatores para todos os experimentos no decorrer do processo de fermentação alcoólica dos hidroméis, esse crescimento celular foi observado durante toda a fermentação, mesmo sabendo que o intuito do trabalho não era crescimento celular, e sim produção de álcool. Muniz, (2009), em sua pesquisa também ocorreu o aumento celular dentro dos biorreatores para todos os experimentos no decorrer do processo fermentativo da algaroba. De acordo com Muniz, (2009) todos os experimentos demonstraram variações no início e término das concentrações celulares, entretanto todos demonstraram um bom crescimento das massas celulares. Essas variações podem ter tido influência de alguns fatores, como a linhagem de levedura utilizada, bem como a concentração inicial de açúcares totais.

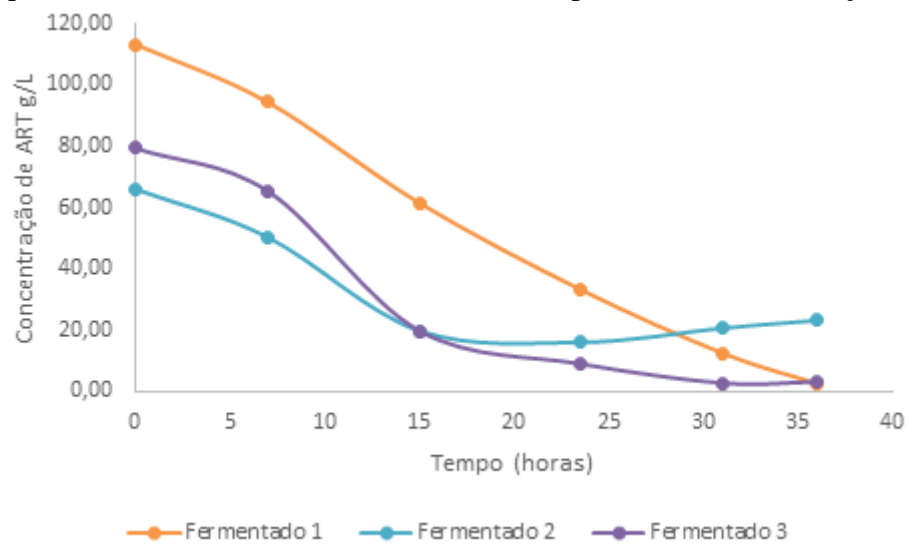
Figura 14 – Comportamento do crescimento celular nos biorreatores 1,2 e 3



Fonte: Dados da pesquisa

Observa-se na Figura 14, perfis de decaimento de ART ao longo do processo fermentativo. De acordo com a Figura 14, foram observados para os fermentados 1,2 e 3, uma acentuada queda nos açúcares redutores totais devido o consumo do próprio açúcar que estava contido no mosto, essa redução acentuada foi observada até o tempo de 35, 15 e 15 horas, respectivamente para os fermentados 1, 2 e 3 onde depois foi observado o consumo de açúcares de maneira mais sutil.

Figura 15- Comportamento dos substratos (ART) durante o processo de fermentação alcoólica



Fonte: Dados da pesquisa

6 CONCLUSÃO

- ✓ De acordo com os resultados obtidos das análises para as amostras de méis industriais de marcas distintas, pode-se concluir que os méis se encontraram dentro dos parâmetros da legislação brasileira, permitindo sua comercialização e também sua utilização na produção de hidromel.
- ✓ Processo rápido com um bom rendimento final do produto e com todos os parâmetros fermentativos próximos de valores encontrados em outros trabalhos. Dessa forma, podemos considerar que o hidromel é uma alternativa viável para o produtor de mel, se tornando uma forma de comércio, onde se pode agregar valor e gerar uma boa renda para a agricultores familiares.
- ✓ A utilização de mel industrial e de leveduras comerciais, empregadas na produção de bebidas alcoólicas, é uma alternativa viável para produção de hidromel;
- ✓ Os hidroméis apresentaram características físico-químicas distintas, evidenciadas pela diferença na coloração das amostras;
- ✓ A graduação alcoólica final foi de 11,6%, 8,9% e 10,6% para as amostras de marca 1,2 e 3, respectivamente, sendo o tempo de fermentação de 35 horas.

7 PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS

- ✓ Fazer análise sensorial e, conseqüentemente a aceitação dos hidroméis com provadores especializados;
- ✓ Estudar os parâmetros cinéticos do processo fermentativo;
- ✓ Produzir um hidromel com leveduras específicas para o mel;
- ✓ Trabalhar a viabilidade econômica do hidromel;

REFERENCIAS

AGANIN, A.F. **Electrical conductivity of several unifloral honeys.** Trudy Saratovskogo Zootekhnikeskogo Inatituta, v.21, p.137-144, 1971.

Al Mamary.L., Daniel, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L., Bogdanov, S., 2009. **Physicochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania.** Food Chemistry, 112, 863-867.

ALMEIDA, D. de. **Espécies de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) e tipificação dos méis por elas produzidos em área de cerrado do município de Pirassununga,** Estado de São Paulo. Piracicaba, 2002. 103p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura ‘Luiz de Queiroz’ Universidade de São Paulo.

ALMEIDA, M.M. **Cinética da produção do fermentado do fruto do mandacaru.** Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.8, n.1, p.35-42, 2006.

ALVES, R.M.O.; CARVALHO, C.A.L.; SOUZA, B.A. 2005. **Características físico – químicas de amostras de mel de M. mandaçaia SMITH (Hymenoptera: Apidae).** Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 25, 644-650.

ANDRADE, M. B et tal. **Fermentação Alcoólica e Caracterização de Fermentado de Morango.** 2013.

ANDRIETTA, S.R. **Apostila do Curso de Engenharia de Fermentação.** p. 71; 99, 2007.

ANKLAM, E. A. **Review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey.** Food Chemistry, v. 63, n.4, p.549–562, 1998.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemistry.** 11.ed. Washington, 1992. 1015p.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists: edited Ig W. Horwitz** 16th ed. Washington (DC): 1997; 2, p. 850.

ARAÚJO, R. D; SILVA, R. H. D.; SOUZA, J. S. **Avaliação da qualidade físico-química do mel comercializado na cidade de Crato, CE.** Revista de Biologia e Ciências da Terra, Campina Grande, v. 6, n. 1, p. 51-55, jan./jul. 2006.

ARRÁEZ-ROMÁN, D., GÓMEZCARAVACA, A.M., GÓMEZ-ROMERO, M., SEGURA-CARRATERO, A., FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A., 2006. **Identification of phenolic compounds in rosemary honey using solid-phase extraction by capillary electrophoresis-electrospray ionization-mass spectrometry.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41, 1648-1656.

AQUARONE, E. BORZANI, W.; LIMA, U. A.; SCHMIDELL, W. **Processos Fermentativos e Enzimáticos** .Vol 3. s.l.: Ed Edgard Blucher Ltda, 2001.

AZEREDO, L.C. et al. **Protein contents and physicochemical properties in honey samples of Apis mellifera of different origins.** Food Chemistry, v.80, p.249-254, 2007.

AZEREDO, M. A. A.; AZEREDO, L. da C.; DAMASCENO, J. G.; **Características FísicoQuímicas do Mel do Rio de Janeiro**, 2007. Acessado em: 23 de setembro de 2016.

BARROS, L.B.; TORRES, F.R.; AZEREDO, L.C.; BARTH, O.M.; FREITAS, M.Q. **Caracterização físico-química de mel produzido por Apis mellifera no estado do Rio de Janeiro.** Revista Brasileira de Ciência Veterinária, v.17, n. 3/4, p.117-120, 2010.

BARWAL, V. S. **Low alcoholic beverages from culled apples.** Journal of Food Science and Technology, India, v.28, n.4, p.257-258, 1991.

BERA, A.; MURADIAN, L.B.A. **Propriedades físico-químicas de amostras comerciais de mel com própolis do estado de São Paulo**, Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.27, n.1, p.49-52, 2007.

BERRY, B. **The global mead market: opportunities for canadian mead exporters.** Ottawa, Ontário; Agriculture and Agri-Food Canada, 2007. Disponível em:<<http://www.agr.gc.ca/eng/programs-and-services/list-of-programs-and-services/agri-foodtrade-service/?id=1410965065217>>. Acesso em: 10 de setembro de 2016.

BERTOLDI, F.C., REIS, V.D.A., GONZAGA, L.V., CONGRO, C.R. 2007. **Caracterização físico-química e sensorial de amostras de mel de abelhas africanizadas (Apis mellifera L.) produzidas no pantanal.** Evidência 7: 63-74.

BERTONCELJ, J., DOBERŠEK, U., JAMNIK, M., GOLOB, T., 2007. **Evaluation of phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey.** Food Chemistry, 103, 822-828

BOGDANOV, S. **Honey quality and international regulatory standards: review by International Honey Commission;** Bee World,Gerrard Cross, v.80, n.2.p.61-69,1999.

BOGDANOV, S. **The Book of Honey: physical properties of honey.** In. **Bee-hexagon (Cord.). Physical Properties of Honey.** Bee Product Science, 2010, chapter 4, p 1-5. Disponível em: Acesso em: 6 out. 2016.

BOLETIN OFICIAL ESPAÑOL, Madrid, 18/6/1986, p. 145

BORZANI, W. **Curso de fundamentos de engenharia bioquímica: Cinética dos processos fermentativos.** São Caetano do Sul, SP. Instituto Mauá de Tecnologia, Centro Mauá de Ensaios e Pesquisas. 1985. 23f.

BRASIL.Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000.** Acesso em: 30 de setembro de 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 6.871, de 04 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 julho de 1994. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 5 jun. 2009. Acesso em: 20 setembro de 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 34, de 29 de novembro de 2012. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade das bebidas fermentadas: fermentado de fruta; fermentado de fruta licoroso; fermentado de fruta composto; sidra; hidromel; fermentado de cana; saquê ou sake. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 23 nov. 2012. Seção 1, p. 3.

BRITO, F. S. de. **Análise cinética e estudo dos parâmetros fermentativos para a produção de hidromel**, 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos) do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, da Universidade Federal de Campina Grande.

BRUNELLI, L. T. **Caracterização físico-química, energética e sensorial de hidromel.**2015.1986-B894p. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo. 2015.

BUCCIANO, B. **Produção de mel do Brasil precisa de modernização, mas ainda está entre as maiores do mundo.** Sorocaba, 2014. Disponível em: < <http://pecuaria.ruralbr.com.br/noticia/2016/08/producao-de-mel-do-brasil-precis-a-demodernizacao-mas-ainda-esta-entre-as-maiores-do-mundo-4580489.html> >. Acesso em: 06 out. 2016.

CARDOSO, K.F.G. **Qualidade do mel de Apis mellifera L. produzido na região do pólo cuesta, estado de São Paulo**, 2011. Disponível em: >. Acesso em 01 outubro. 2016.

CARVALHO, C. A. L. de. et tal. Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química / Cruz das Almas: Universidade Federal da Bahia/SEAGRI-BA, 2005.

CASELLAS G. **Effect of low temperature fermentation and nitrogen content on wine yeast metabolism** [Tese de Doutorado]. Universitat Rovira i Virgili; 2005.

CHITARRA, M. I. F. **Alimentos minimamente processados**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2005. 93 p. Texto acadêmico tecnologia e qualidade de alimentos vegetais.

CODEX ALIMENTARIUS. **Revised codex standard for honey**. Rev. 2 [2001]. 24th Session of the Codex Alimentarius 22 DIAS, J. S. et al. / UNOPAR Cient. Exatas Tecnol., Londrina, v. 8, n. 1, p. 19-22, Nov. 2009. Disponível em: www.codexalimentarius.net/standard. Acesso em: 20 set. 2016

COULTATE, T. P. **Alimentos: a química de seus componentes**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

CRANE, E. O Livro Do Mel. São Paulo: Editora Nobel, 1983. 226p. LENGLER, Silvio. **Inspeção e Controle de Qualidade do Mel**. 2007. Disponível em:http://www.sebraern.com.br/apicultura/pesquisas/inspecao_mel01>. Acessado em 03/10/2016.

CRECENTE, R.P.; LATORRE, C.H. **Pattern recognition analysis applied to classification of honeys from two geographic origins**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.41, p.560-564, 1993.

Decreto-Lei nº 214/2003 de 18 de Setembro, Diário da Republica Iª Serie A. 9. Fleet G. **The microbiology of alcoholic beverages**. In Microbiology of Fermented Foods. (eds) BJ Wood Chapman & Hall, Glasgow. 1998;:217–262

Decreto-Lei nº 214/2003 de 18 de Setembro, Diário da Republica Iª Serie A.

DELANOE, D.; MAILLARD, C.; MAISONDIEU, D. **O vinho da análise à elaboração**. Portugal: Europa-América, 1989. (Coleção EUROAGRO)

ESTEVINHO, L. M., FEAS, X., SEIJAS, J. A. E PILAR VAZQUEZ-TATO, M. (2012). **Organic honey from Tras-Os-Montes region (Portugal): chemical, palynological,**

microbiological and bioactive compounds characterization. Food and Chemical Toxicology, 50: 258-264.

EVANGELISTA – RODRIGUES, A.; SILVA, E. M. S. da; BESERRA, M.F.; RODRIGUES, M. L. **Análise físico – química de méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melípona Scutellaris* produzidos em duas regiões no Estado da Paraíba.** Ciência Rural, Santa Maria, v. 35, n. 5, p. 1166- 1171, set- out, 2005

FALLICO, B.; ZAPPALA, M.; ARENA, E.; VERZERA, A. **Effects of conditioning HMF content in unifloral honeys.** Food Chemistry, v. 85, p . 305-313, 2004.

FERRAZ, F. O. **Estudo dos parâmetros fermentativos, características físico-químico e sensoriais de hydromel.** 2014. 129 p. Tese (Doutorado em Ciências). Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, São Paulo. 2015.

FINOLA, M. S.; LASAGNO, M.C.; MARIOLI, J. M. **Microbial and chemical characterization of honeys from central Argentina.** Food Chemistry, v. 100, p. 1649-1653, 2007.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS STATISTICS - FAO. FAOSTAT – Statistics Database. 2015. Disponível em:. Acesso em: 25 setembro de 2016.

FRANCO, BDGM, Landgraf M. Microbiologia dos alimentos, 2. ed. São Paulo: Ed Atheneu; 1996.

FRIAS, I.; HARDISSON, A. **Estudio de los parâmetros analíticos de interes en la miel. II: Azucares, cenizas y contenido mineral y color.** Alimentaria, v.28, n.235,p.41-43, 2008.

GOMES T. **Produção de Hidromel: efeito das condições de fermentação** [Mestrado em Biotecnologia]. Instituto Politécnico de Bragança; 2008.

GUPTA, J. K.; SHARMA, R. **Production technology and quality characteristics of mead and fruit-honey wines: a review.** Natural Product Radiance, New Delhi, v. 8, p. 345-2009.

HONÓRIO M. **Comparação da viabilidade celular na produção de etanol fabricado pela dorna aberta e pela dorna fechada.** [Internet]. 2014 [cited 1 November 2014];. Disponível em: <http://www.crbiodigital.com.br/portal?txt=3077313835>

IGLESIAS, A.; FEÁS, X.; RODRIGUES, S.; SEIJAS, J.A.; VÁZQUEZ-TATO, M.P.; DIAS, L.G.; ESTEVINHO, L.M. **Comprehensive study of honey with protected 32 denomination of origin and contribution to the enhancement of legal specifications.** *Molecules* Basel, Basel, v. 17, p. 8561–8577, 2012.

IGLESIAS, A.; PASCOAL, A.; CHOUPINA, A.B.; CARVALHO, C.A.; FEÁS, X.; ESTEVINHO, L.M. **Developments in the Fermentation Process and Quality Improvement Strategies for Mead Production.** *Molecules* Basel, Basel, v. 19, n. 8, p. 12577-12590, 2014.

ILHA, E.C., BERTOLDI, F.C., REIS, V.D.A., SANT'ANNA, E. **Rendimento e eficiência da fermentação alcoólica na produção de hidromel.** *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento* 84. Corumbá, Mato Grosso do Sul: Embrapa, 2008

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Físico-químicos para análise de alimentos.** 4ed., p 329 – 343, 2005.

IURLINA, M.O.; FRITZ, R. **Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources.** *International Journal of Food Microbiology*, n.105, p. 297 – 304, 2005.

KÜÇÜK, M., KOLAILI, S., KARAOĞLU, Ş., ULUSOY, E., BALTACI, C., CANDAN, F., 2007. **Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia.** *Food Chemistry*, 100, 526-534.

LACERDA, J.J.J., SANTOS, J.S., SANTOS, S.A., RODRIGUES, G.B., SANTOS, M.L.P. 2010. **Influência das características físico-químicas e composição elementar nas cores de méis produzidos por *Apis mellifera* no sudoeste da Bahia utilizando análise multivariada.** *Química Nova* 33: 1022-1026.

MAIA, M., RUSSO-ALMEIDA, P.A., PEREIRA, J.O.B., 2003. **Contribuição para a caracterização do mel da região do Alvão-Marão.** *O Apicultor*, 39, 19-23.

MARCHINI, L.C.; SODRÉ, G.S.; MORETI, A.C.C.C. **Mel Brasileiro: composição e norm** Ribeirão Preto: A.S. Pinto, 2004. 111p.

MARCHINI, L.C. et al. **Análise de agrupamento, com base na composição físico-química, de amostras de méis produzidos por *Apis mellifera* L. no Estado de São Paulo.** *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.25, n.1, p.8-17, 2005.

MENDES-FERREIRA, A.; COSME, F.; BARBOSA, C.; FALICO, V.; INÊS, A.; MENDES-FAI, A. **Optimization of honey-must preparation and alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* for mead production.** International Journal of Food Microbiology, Oxford, v. 144, p. 193–198, 2010.

MENDONÇA K., MARCHINI L.C., SOUZA B.A., ANACLETO D.A. & MORETI A.C.C.C. 2008. **Caracterização físico-química de amostras de méis produzidas por *Apis mellifera* L. em fragmento de cerrado no município de Itirapina, São Paulo.** *Ciência Rural*, 38(6):1748-1753.

MORETI, A. C. C. C.; SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L. C.; OTSUK, I. P. **Características físico-químicas de amostras de méis de *Apis mellifera* L. do estado do Ceará, Brasil.** *Ciencia Agrotécnica*, v. 33, n. 1, p. 191-199, jan/fev, 2009.

MOULING, G.; BOZE, H.; GALZY, P. **Inhibition of alcoholic fermentation by substrate and ethanol.** *Biotechnonology and Bioengineerin*, New York, v.22, p.235-2381, 1980.

MOURA, **Propriedades físicas e químicas do mel de *Apis mellifera* L.**, 2010.

MUNIEWEG, F.R. **Produção do hidromel como alternativa de renda para apicultores do município de Itaquí, RS**, 2015.

MUNIZ, M.B. **Processamento das vagens de algaroba (*Prosopis juliflora*) para produção de bioprodutos.** Tese (Doutorado). Universidade Federal de Campina Grande, Programa de Pós Graduação em Engenharia de Processos. 2009.

NAVRÁTIL M, STURDÍK E, GEMEINER P. **Batch and continuous mead production with pectate immobilised, ethanol-tolerant yeast.** *Biotechnology letters*. 2001;23(12):977—982.

NIEMES, J. P. et al. **Estudo da fermentação do mel para produção de bebidas.** In: ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 16., 2008. Anais... SBQSul, 2008.

OLAITAN, P. B.; ADELEKE, O. E.; OLA, I. O. **Honey: a reservoir for microorganisms : an inhibitory agent for microbes.** *African Health Sciences*, Ajol, v. 7, p. 159-165, 2007.

OLIVEIRA, M .J. de. **Gestão Agroindustrial: Um estudo sobre o modelo “SEBRAE-RN” de produção de mel de abelha no Rio Grande do Norte**, julho de 2006. Dissertação (Mestrado em engenharia de produção), Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

PEREIRA A. **Caracterização de Mel com vista à Produção de Hidromel** [Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar]. Instituto Politécnico de Bragança; 2008.

PEREIRA, A.P., DIAS, T., ANDRADE, J., RAMALHOSA, E., ESTEVINHO, L.M., 2009. **Mead production: Selection and characterization assays of *Saccharomyces cerevisiae* strains**. Food and Chemical Toxicology, 47, 2057-2063.

PEREIRA, A. P.; MENDES-FERREIRA A; OLIVEIRA, J. M. **Effect of *Saccharomyces cerevisiae* cells immobilisation on mead production**. LWT- Food Science and Technology, Amsterdam, v. 56, p. 21–30, 2014.

PEREIRA, F. DE M.; LOPES, M. T. DO R.; CAMARGO, R. C.R. DE; VILELA, S. L. de O. **Produção de mel**. Embrapa Meio-Norte, versão virtual. 2003. Disponível em:<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mel/SPMel/index.htm>>. Acesso em: 23 setembro 2016.

Pt.scribd.com. Hidromel [Internet]. 2014 [cited 19 October 2014]. Disponível em: <http://pt.scribd.com/doc/74835487/Hidromel>

QUEIROZ, J. et, al. **Produção de hidromel de forma artesanal e avaliação dos parâmetros durante o processo fermentativo**, 2014.

RAMALHOSA, E.E.; GOMES, T.T.; PEREIRA, A.P.; DIAS, T.T.; ESTEVINHO, L.M. **Mead production tradition versus modernity**. Advanced Food Nutritional Research, v. 63, n. 1, p. 101-118, 2011.

REGULY, J.C. **Biotecnologia dos processos fermentativos**. Pelotas: Editora UFPel, 1998. v. 2

ROBINSON, T., NIGAM, P. (2003), **Bioreactor design for protein enrichment of agricultural residues by solid state fermentation**. Biochemical Engineering Journal, v. 13, p. 197-203.

RODRIGUES AE, SILVA SEM, BESERRA EMF, RODRIGUES ML. **Análise físi química dos méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em regiões distintas no Estado da Paraíba**. Ciênc Rural. 2005; 35(5):1166-71.
ROLDÁN, A.; MUISWINKEL, G.; LASANTA, C.; PALACIOS, V.; CARO, I. **Influence of pollen addition on mead elaboration: Physicochemical and sensory characteristics**. Food Chemistry, Oxford, v. 126, p. 574-582, 2011.

SCHULLER, D.; CASAL, M. **The use of genetically modified *Saccharomyces cerevisiae* strains in the wine industry.** Mini-review. *Applied Microbiology Biotechnology*, Münster, v. 68, p. 292-304, 2005.

SCHLABITZ C., SILVA S.A.F. & SOUZA C.F.V. 2010. **Avaliação de parâmetros físico-químicos e microbiológicos em mel.** *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, 4(1): 80 – 90.

SCHWEITZER P. Qualidade do mel. Apacame, Disponível em URL:<http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/61>. Acesso em: 14 set. 2016.

SEEMANN, P.; NEIRA, M. **Tecnología de la producción apícola.** Valdivia: Universidad Austral de Chile Facultad de Ciencias Agrarias Empaste, 2008. 202p.

SILVA, A.; MAIA, A.; SOUSA, M.; COSTA, C. **Composição e propriedades terapêuticas do mel de abelha.** *Revista Alim. Nutr.*, Araraquara, v.17, n.1, p.113-120, 2006.

SILVA, C. L.; QUEIROZ, A. J. M.; FIGUEIREDO, R. M. F. **Caracterização físicoquímica de méis produzidos no Estado do Piauí para diferentes floradas.** *Revista brasileira eng. Agrícola e ambiental*, Campina Grande, v.8, n.2-3, p. 260-26, 2004.

SILVA, M.B.L.; CHAVES, J.B.P.; VALENTE, M.E.R.; GOMES, J.C.; OLIVEIRA, G.F.; MESSAGE, D. **Qualidade de méis produzidos por apicultores e méis provenientes de entrepostos registrados no Serviço de Inspeção Federal.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 63, n. 4, p. 1043-1045, 2011.

SILVA, S. J. N. **Determinação do 5-hidroximetilfurfural em méis utilizando cromatografia eletrocínética capilar micelar.** *Ciênc. Technol. Aliment.*, v. 28, p. 46-50, 2008.

SODRÉ, G.S.; MARCHINI, L.C.; MORETI, A.C.C.C.; OTSUK, I.P.; CARVALHO, C.A.L. 2003. **Análises multivariadas com base nas características físico-químicas de amostras de méis de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) da região litoral norte no estado Bahia.** *Archivos Latinoamericano Producción Animal*, 1,129-137.

SODRE, S. **Características físico- químicas, microbiológicas e polínicas de amostras de méis de *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae) dos estados do Ceará e Piauí,** 2005. p. 3-27

SODRÉ, G.S.; MARCHINI, L.C.; MORETI, A.C.C.C.; OTSUK, I.P.; CARVALHO, C.A.L. 2007. **Caracterização físico-química de amostras de méis de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) do Estado do Ceará.** *Ciencia rural*, 37, 1139 – 1144.

SOLORD. The Mead Maker's Page.2015. Acesso em: 03 de outubro 2016.

SROKA, P.; TUSZYŃSKI, T. **Changes in organic acid contents during mead wort fermentation.** *Food Chemistry*, Elsevier, v. 104, p. 1250–1257, 2007.

WELKE J.E., REGINATTO S., FERREIRA D., VICENZI R. & SOARES J.M. 2008. **Caracterização físico-química de méis de *Apis mellifera* L. da região noroestes do Estado do Rio Grande do sul.** *Ciência Rural*, 38(6).

WOOD CHAPMAN & HALL, GLASGOW. **The microbiology of alcoholic beverages.** In *Microbiology of Fermented Foods*. (eds).1998;:217–262.

UKPABI, U. J. **Quality evaluation of meads produced with cassava (*Manihot esculenta*) floral honey under farm conditions in Nigeria.** *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, Mérida, v. 6, p. 37- 41, 2006.

VENTURINI, S. **Características do Mel**, 2007. Universidade Federal do Espírito Santo. Disponível em:<http://www.vidaperpetua.com.br>>. Acessado em 18/09/2016.

VENTURINI, K. S. SARCINELLI, M. F. SILVA, L. C. 2010. **Características do Mel; Universidade Federal do Espírito Santo.** Disponível em:<http://www.vidaperpetua.com.br>>. Acessado em 18/09/2016.

VIDAL, R.; FREGOSI, E.V. de. **Mel: características, análises físico-químicas, adulteração e transformação.** Barretos: Instituto Tecnológico Científico “Roberto Rios”. 2004.

VIEGAS, M.C. **Otimização de sistema de fermentação alcoólica contínua utilizando reatores tipo torre e leveduras com características flocculantes.** Tese (Doutorado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química. Universidade Estadual de Campinas.150 p. 2003.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Resumo da análise de variância para acidez fixa.

| Fontes de variação | Graus de liberdade | Quadrado médio | Valor de F | Probabilidade |
|--------------------|--------------------|----------------|------------|---------------|
| Tratamentos | 2 | 1,05444 | 1,0498 | 0,4065 |
| Resíduo | 6 | 1,00444 | | |
| Total | 8 | | | |

Média= 16,37778

CV= 6,12

APÊNDICE B – Resumo da análise de variância para acidez total.

| Fontes de variação | Graus de liberdade | Quadrado médio | Valor de F | Probabilidade |
|--------------------|--------------------|----------------|------------|---------------|
| Tratamentos | 2 | 84,36000 | 4218,0000 | <0,0001 |
| Resíduo | 6 | 0,02000 | | |
| Total | 8 | | | |

Média= 35,50000

CV= 0,40

APÊNDICE C – Resumo da análise de variância para acidez volátil.

| Fontes de variação | Graus de liberdade | Quadrado médio | Valor de F | Probabilidade |
|--------------------|--------------------|----------------|------------|---------------|
| Tratamentos | 2 | 66,55444 | 64,9664 | <0,0001 |
| Resíduo | 6 | 1,02444 | | |
| Total | 8 | | | |

Média= 19,12222

CV= 5,29

APÊNDICE D – Resumo da análise de variância para atividade de água.

| Fontes de variação | Graus de liberdade | Quadrado médio | Valor de F | Probabilidade |
|--------------------|--------------------|----------------|------------|---------------|
| Tratamentos | 2 | 0,00214 | 11,2334 | 0,0093 |
| Resíduo | 6 | 0,00019 | | |
| Total | 8 | | | |

Média= 0,58867

CV= 2,35

APÊNDICE E – Resumo da análise de variância para cinzas.

| Fontes de variação | Graus de liberdade | Quadrado médio | Valor de F | Probabilidade |
|--------------------|--------------------|----------------|------------|---------------|
| Tratamentos | 2 | 0,40439 | 3,7541 | 0,0876 |
| Resíduo | 6 | 0,10772 | | |
| Total | 8 | | | |

Média= 0,51844

CV= 63,31

APÊNDICE F– Resumo da análise de variância para condutividade elétrica.

| Fontes de variação | Graus de liberdade | Quadrado médio | Valor de F | Probabilidade |
|--------------------|--------------------|----------------|------------|---------------|
| Tratamentos | 2 | 1221952,92111 | 1367857,75 | <0,0001 |
| Resíduo | 6 | 0,89333 | | |
| Total | 8 | | | |

Média =733,65556

CV= 0,13

APÊNDICE G– Resumo da análise de variância para pH.

| Fontes de variação | Graus de liberdade | Quadrado médio | Valor de F | Probabilidade |
|--------------------|--------------------|----------------|------------|---------------|
| Tratamentos | 2 | 2,12501 | 2854,4925 | <0,0001 |
| Resíduo | 6 | 0,00074 | | |
| Total | 8 | | | |

Média = 3,68111

CV= 0,74

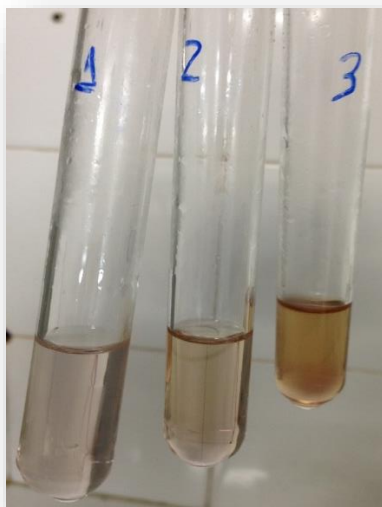
APÊNDICE H– Resumo da análise de variância para umidade.

| Fontes de variação | Graus de liberdade | Quadrado médio | Valor de F | Probabilidade |
|--------------------|--------------------|----------------|------------|---------------|
| Tratamentos | 2 | 3,30333 | 14,8650 | 0,0047 |
| Resíduo | 6 | 0,22222 | | |
| Total | 8 | | | |

Média = 16,83333

CV= 2,80

Figura 8- Resultado da análise de hidroximetilfurfural



Fonte: Autora (2016)