

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
BACHARELADO EM ENGENHARIA QUÍMICA

NILSON YUGO MATSUO
RENATO STEFFEN

**EFEITO DO PROCESSO FERMENTATIVO NA CINÉTICA E QUALIDADE
DE HIDROMEL**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PONTA GROSSA
2018

NILSON YUGO MATSUO

RENATO STEFFEN

EFEITO DO PROCESSO FERMENTATIVO NA CINÉTICA E QUALIDADE DE HIDROMEL

Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química, do departamento de engenharia química, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientador: Prof.^a Sabrina Ávila Rodrigues

PONTA GROSSA

2018



TERMO DE APROVAÇÃO

Efeitos do Processo Fermentativo na Cinética e Qualidade de Hidromel

por

Nilson Yugo Matsuo

Renato Daher Augusto Steffen

Monografia apresentada no dia 13 de Dezembro de 2018 ao Curso de Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Ponta Grossa. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Cesar Arthur Martins Chornobai
(UTFPR)

Prof. Ms. Luciano Tozetto
(UTFPR)

Profa. Dra. Sábrina Ávila Rodrigues
(UTFPR)
Orientador

Profa. Dra. Juliana de Paula Martins
Responsável pelo TCC do Curso de Engenharia Químicaⁱ

ⁱ O documento com as devidas assinaturas se encontra na sala da coordenação de Engenharia Química da UTFPR câmpus Ponta Grossa

RESUMO

MATSUO, Nilson Yugo; Steffen, Renato Daher Augusto. **Efeito do processo fermentativo na cinética e qualidade de hidromel**. 2018. 35f. Trabalho de conclusão de curso – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2018

O hidromel, uma bebida milenar porém caída em esquecimento, apresenta uma boa alternativa para agregar valor à matéria prima utilizada, o mel. Foram elaboradas duas amostras de hidromel a partir de um único mosto com 25 graus °Brix, adicionado de grãos de pólen. Uma seguiu para fermentação convencional e a outra para fermentação com levedura imobilizada. A fermentação ocorreu a uma temperatura média de 11,2°C durante 34 dias, após a fermentação foi maturado por 142 dias a 5,5°C. Ao final deste processo, as bebidas foram engarrafadas e submetidas a análises físico-químicas e sensoriais, onde pudemos observar diferenças entre o hidromel feito de maneira tradicional e o feito com leveduras imobilizadas no teor alcoólico (9,6% e 8,7%), turbidez (34 e 26 NTU), e luminosidade (23,66 e 23,51), respectivamente.

Palavras-Chave: Hidromel, *Saccharomyces cerevisiae*, imobilização celular, alginato de cálcio

ABSTRACT

MATSUO, Nilson Yugo; Steffen, Renato Daher Augusto. **Effects of fermentation process on mead kinetics and quality**. 2018. 35f. Trabalho de conclusão de curso – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2018

Mead, a millenarian but forgotten beverage, presents a good alternative to add value to the raw material used, honey. Two mead samples will be prepared from a single 25 degree °Brix wort, added with pollen grains, which will be divided into two parts, one for conventional fermentation and the other for fermentation with immobilized yeast. The fermentation will occur at roughly 11,2 °C, after fermenting they will be matured for 142 days at 5,5 °C. At the end of this process, the beverages were submitted to physical-chemical and sensorial analysis, where we could observe differences between the traditional and immobilized yeast meads on their alcoholic volume (9.6% and 8.7% %), turbidity (34 and 26 NTU), and brightness, respectively.

Keywords: Mead, *Saccharomyces cerevisiae*, cell immobilization, calcium alginate

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Quadro de classificação do mel.....	11
Figura 2 - Fluxograma de produção de Hidromel.....	19
Figura 3 - Fluxograma do processo realizado	26
Figura 4 - Gráfico °Brix em relação ao tempo	31
Figura 5 - Gráfico Temperatura do mosto em relação ao tempo	32
Figura 6 - Quadro de turbidez de bebidas.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média das análises obtidas para cada amostra de hidromel.....35

Tabela 2 - Análise comparativa com bebidas fermentadas.....36

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	10
2.1 OBJETIVOS GERAIS	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3 REVISÃO BIBLIOGRAFICA	11
3.1 MEL.....	11
3.1.1 Composição.....	11
3.1.2 Cor	15
3.1.3 Microbiologia do mel	16
3.2 HIDROMEL	16
3.2.1 Aditivos	17
3.2.2 Microbiologia.....	17
3.2.3 Processamento.....	18
3.3 FERMENTAÇÃO.....	22
3.4 IMOBILIZAÇÃO CELULAR	23
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
4.1 PREPARAÇÃO DA CULTURA DE LEVEDURA	27
4.2 IMOBILIZAÇÃO DA LEVEDURA	27
4.3 PREPARAÇÃO DO MOSTO.....	27
4.4 FERMENTAÇÃO.....	28
4.5 MATURAÇÃO	29
4.6 ANÁLISES.....	29
4.6.1 Análise teor alcoólico	29
4.6.2 Análise de turbidez e pH.....	29
4.6.3 Análise de cor	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	31
5.1 ANÁLISE DE TEOR ALCOÓLICO	31
5.2 ANÁLISE DE TURBIDEZ	33
5.3 ANÁLISE DE PH	34
5.4 ANÁLISE DE COR.....	34
6 CONCLUSÃO.....	37
7 REFERÊNCIAS.....	38

1 INTRODUÇÃO

A história do mel no Brasil começou em 1839, quando o padre Antonio Carneiro importou de Portugal cerca de 100 colônias de *Apis mellífera*, dando início à apicultura no país. Instaladas no Rio de Janeiro, as únicas sete colônias sobreviventes tinham como propósito hobby e produção de ceras. Posteriormente, imigrantes de origem italiana e alemã trouxeram culturas de abelhas para região sul e sudeste do país, porém as abelhas de origem europeia apresentavam uma baixa produção de mel, por não serem adaptadas ao clima brasileiro, além de serem muito suscetíveis a doenças como acariose e nosemose. Buscando alternativas para reverter esse quadro, houve a importação de abelhas africanas em 1956, no entanto por um manejo falho, elas foram soltas na natureza, dando origem a “africanização” das espécies locais, resultando em abelhas muito mais agressivas, porém muito mais eficientes e resistentes (A.B.E.L.H.A, 2015)

De acordo com a resolução número 12 de 1978 (Anvisa), mel é definido como “*produto natural elaborado por abelhas, a partir de néctas de flores e/ou exsudatos sacarínicos de plantas*”, não podendo ser adicionado de substâncias estranhas à sua composição natural ou corretivos de acidez. Dentre a gama de produtos produzidos por abelhas (pólen apícola, própolis, geleia real, ceras), o mel é com certeza o mais conhecido e consumido mundialmente. Apresentando aromas, sabores e cores características de seus néctares de origem, ele pode ser utilizado para adoçar, produzir bebidas, e tem até mesmo propriedades medicinais (CRANE, 187)

Definido pelo artigo 48 do decreto número 6871 de 4 de julho de 2009 (BRASIL, 2009), o hidromel é “*bebida com graduação alcoólica de 4 a 14% (v/v), 20°C, obtido pela fermentação alcoólica de solução de mel de abelhas, sais nutrientes e água potável*”. Sua origem é antiga, sendo uma das primeiras bebidas fermentadas produzida pelo homem, com sua provável origem em países africanos, tendo sua produção e consumo estendidos por toda Europa (IGLESIAS et al,2014). No mundo contemporâneo, a oferta e demanda da bebida ainda são relativamente baixas, se comparadas com outros fermentados alcoólicos, fato este que pode ser atribuído a poucos trabalhos e estudos científicos na área (MATTIETTO et al, 2006).

De forma geral, a produção de bebidas alcoólicas sempre esteve presente na sociedade humana, e suas tecnologias evoluíram concomitantemente com a civilização, sendo esse mercado responsável por gerações de emprego, giro de capital de desenvolvimento de tradições e cultura.

Em relação ao hidromel, sua produção pode apresentar uma boa alternativa para agregação do valor e posterior comercialização para apicultores, proporcionando renda extra e geração de empregos, e conseqüentemente uma melhora na qualidade de vida da população rural. O território brasileiro apresenta condições climáticas, dimensões territoriais, fauna e flora muito favoráveis para atividade de apicultura (MARCHINI, 2004), porém, atualmente, grande parte da produção desta bebida é realizada de maneira empírica, de modo informal, por apicultores ou por entusiastas da bebida. Foi apenas em 2013 que a primeira indústria de hidromel se instalou no Brasil, a Bee Gold, localizada em Sorocaba, no interior de São Paulo. O presente trabalho, apresenta uma alternativa para o processo de produção, não só do hidromel, como para todas as bebidas alcoólicas, introduzindo a inoculação de mostos com leveduras encapsuladas em alginato de cálcio, a fim de facilitar sua produção, e observar diferenças físico-químicas no produto final

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar o efeito do uso de leveduras livres e encapsuladas na cinética da fermentação e na qualidade de hidromel.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aplicar a técnica de encapsulação em alginato de sódio para levedura *Saccharomices cerevisiae*;
- Obter um mosto de mel com condições ótimas para fermentação;
- Conduzir dois processos fermentativos para obtenção de hidromel sendo um com leveduras livres e outro com leveduras encapsuladas;
- Avaliar a cinética de fermentação dos dois processos;
- Avaliar a qualidade físico-química dos produtos finais

3 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

3.1 MEL

Segundo a definição brasileira (de que fonte?), mel é um “*produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos das colmeias*”, pode-se o classificar mais a fundo, segundo o quadro abaixo:

Atributos	Classificação	Definição
Processo de obtenção	Mel virgem	Produto que flui espontaneamente dos favos.
	Mel centrifugado	Obtido a partir de processo de centrifugação.
	Mel prensado	Obtido por prensagem a frio
	Mel em favos	Mantido dentro dos próprios favos.
Características Físico-químicas	Mel de mesa	Para consumo em seu estado atual
	Mel industrial	Para produção industrial de derivados
Origem	Mel monofloral	Néctar utilizada majoritariamente de uma mesma família de flores
	Mel multifloral	Néctar provem de múltiplas origens florais
	Melato	Néctar originário de secreções de partes vivas das plantas e/ou de insetos que se encontram nelas
Apresentação	Mel	Líquido ou semi-cristalizado
	Mel cristalizado	Houve uma cristalização natural do produto
	Mel em favos	Contido em suas células naturais de armazenamento (favos)
	Mel cremoso	Com estrutura cristalina, foi submetido a processos físicos visando alteração estrutural
	Mel filtrado	Produto filtrado, sem alteração nutricional

Quadro1 - classificação do mel

Fonte: Anvisa, 1978

3.1.1 Composição

Devido a forma como é produzido, o mel está sujeito a uma alta variabilidade de seus compostos. Sazonalidade, condições climáticas e ambientais, fontes de néctar coletado pelas abelhas, espécie coletora, características do solo, estado de maturação do mel e condições de manuseio e processamento são alguns fatores que alteram suas características (AL-MAMARY, AL-MEERI, AL-HABORI, 2002; SILVA, QUEIROZ, FIGUEIRÊDO, 2004). Estão presentes em sua composição aproximadamente 200 compostos químicos, tendo como protagonista os carboidratos, porém além destes há também a presença de aminoácidos, compostos fenólicos, enzimas, vitaminas, proteínas, lipídios e ácidos orgânicos (AL-MAMARY, AL-MEERI, AL-HABORI et al, 2002).

Suas propriedades físicas, químicas e sensoriais são dependentes das espécies químicas descritas, e determinantes de sua qualidade e aceitação para consumo, além de ter influência direta nas características finais da bebida fermentada, que seria o hidromel, visto que é seu principal ingrediente (RAMALHOSA et al, 2011).

3.1.1.1 Carboidratos

Constituindo cerca de 95% a 99% do peso seco do mel, os carboidratos presentes são a frutose, glucose, sacarose, maltose, isomaltose, trissacarídeos e tetrassacarídeos. A variação da composição de açúcar afeta diretamente as características físicas do mel, tal como viscosidade, granulação, densidade, valor energético, cristalização (ANKLAM, 1998). A glucose e frutose, os dois açúcares mais presentes no mel, variam em proporção de acordo com suas fontes de origem, porém seguem uma média de 1,2/1 e tem forte influência sobre o sabor e granulação, visto que a frutose apresenta um sabor mais doce e é mais solúvel em água. Consequentemente os méis com proporções maiores são mais doces e permanecem em estado líquido por períodos de tempo mais longos (DE RODRIGUEZ et al., 2004; CRANE, 1987). Já a presença elevada de sacarose no meio pode representar uma colheita de mel prematura, onde as abelhas da colônia não tiveram tempo suficiente

para quebrá-la em glucose e frutose por ação da enzima invertase, ou pode ser um sinal de adulteração do mel (MARCHINI, SODRÉ, MORETI, 2007)

3.1.1.2 Água

A água é o segundo componente mais importante do mel e sua porcentagem pode variar de acordo com as condições climáticas, época de colheita e tratamentos aplicados durante a armazenagem. Segundo a ANVISA (1978 ???), sua parcela máxima no peso total é de 21% para méis de mesa e de 25% para méis industriais. A parcela de água presente no mel influencia diretamente em sua viscosidade, cristalização, sabor, tempo de conservação e crescimento microbiano (MARCHINI, 2004).

Quanto maior a parcela de água presente no mel, com mais facilidade ocorrerá a fermentação indesejável de leveduras *in natura* e o crescimento de bactérias naturais ao produto, resultando no aparecimento de etanol e dióxido de carbono, sendo que posteriormente, junto a presença de oxigênio, o etanol é convertido em ácido acético, o que confere características indesejáveis ao mel (VARGAS, 2006).

3.1.1.3 Ácidos orgânicos

Responsáveis por 0,57% da composição do mel (m/m), os ácidos orgânicos conferem o sabor ácido característico (ANKLAM, 1998). A espécie em maior quantidade presente no mel é o ácido glucônico, produzido a partir da enzima glicose-oxidase, e em menores quantidades são identificados os ácidos pirúvico, málico, cítrico, fumárico e succínico. O ácido glucônico, em equilíbrio com a glicolactona, que tem propriedades antimicrobianas (WHITE JR, 1978), caracteriza uma reserva potencial de acidez.

Segundo Finola et al., (2007), valores abaixo de 50 miliequivalentes de ácidos por quilograma de mel indicam que não ocorreu a multiplicação de leveduras, que são

responsáveis pelo aumento da acidez. Outros fatores que mais influenciam o aumento da acidez são sua origem floral e a época de colheita (DE RODRIGUEZ, 2004). O pH do mel se encontra numa faixa de 3,4 a 6,1 (IURLINA e FRITZ, 2005), porém esse fator não está diretamente ligado com a acidez.

3.1.1.4 Minerais e Cinzas

Presentes em quantidades diminutas, compondo de 0,04% (méis claros) a 0,2% (méis escuros), minerais como cálcio, cobre, ferros, manganês, fósforo e potássio, sendo esse último o mais abundante, podem apresentar indícios da localização geográfica e índices de poluição do mel (ANKLAM, 1998).

Segundo Finola, Lasagno, e Marioli (2007), a quantidade de cinzas presentes no mel está diretamente relacionado com as quantidades minerais nele presentes, constatando também que dispersões elevadas no teor de cinzas podem indicar métodos inadequados de colheita.

3.1.1.5 Proteínas

As proteínas presentes no mel, segundo Anklam (1998) podem ter duas origens distintas, derivadas das próprias abelhas, ou do néctar coletado, sendo que uma fração diminuta delas são enzimas oxidase, diastase, glucose, catalase, α -glucosidase e β -glucosidase. As proporções entre proteínas e enzimas variam, de acordo com a espécie de abelha e com as condições climáticas no momento da síntese do mel, porém o valor médio de proteínas é de 0,2% (m/m).

Já o conteúdo azotado do mel, compostos nitrogenados como alcalóides, derivados da clorofila, aminoácidos e aminas (AL-MAMARY, AL-MEERI, AL-HABORI, 2002), representam cerca de 0,04%, sendo que desses, o aminoácido com maior recorrência no mel é a prolina, também estando presentes arginina, triptofano e

cisteína. Um dos métodos para a determinação da origem botânica e geográfica do mel é a análise do leque de aminoácidos presentes (ANKLAM, 1998).

3.1.1.6 Compostos voláteis

Provindo dos néctares de origem, os compostos voláteis são responsáveis por dar ao mel o seu gosto característico e entre os 300 já identificados estão ácidos, álcoois, aldeídos, terpenos, cetonas e ésteres. Uma análise de tais compostos pode prover indícios da origem botânica do mel (FINOLA et al., 2007).

3.1.1.7 Compostos fenólicos e outros compostos

Os compostos fenólicos presentes no mel são em sua maioria flavonoides, pertencentes ao grupo de flavanonas e flavonas (ANKLAM, 1998) e estão entre eles miricetina, tricetina, quercetina, galangina, entre outros e atingem patamares de 6000 miligramas por quilograma de mel.

Além dos compostos fenólicos, estão presentes no mel vitaminas (C, B, complexo B2) e matérias insolúveis, as quais podem ser indício de impurezas.

3.1.2 Cor

Juntamente com o sabor e aroma, a cor é uma característica sensorial única do mel, podendo variar desde amarelo claro, passando a âmbar e vermelho, até quase preto, e está diretamente relacionado com a quantidade de minerais, compostos fenólicos, idade, condições de armazenamento. A transparência, em específico, está relacionada com a quantidade de matéria em suspensão. (Finola et al, 2007)

3.1.3 Microbiologia do mel

Além dos compostos orgânicos e inorgânicos presentes em sua composição, o mel conta com uma fauna interna composta de microrganismos, sendo eles bactérias, leveduras e fungos, podendo ter dois tipos distintos de origem.

A origem primária, sendo o pólen, o sistema digestivo da abelha, pó, ar e flores. Os microrganismos mais comuns dessa origem são bactérias (*Bacillus*, *Micrococcus*), leveduras (*Saccharomyces sp.*) e bolores (*Aspergillus*). As contaminações por essa origem têm um elevado grau de dificuldade em seu controle (SNOWDON; CLIVER, 1996).

A origem secundária desses microrganismos é pelo manuseio e processamento do mel por ação do homem, contaminação cruzada e equipamentos contaminados (SNOWDON e CLIVER, 1996). Sendo detectado altas concentrações de microrganismo em fase vegetativa, é um indício de contaminação por origem secundária, visto que os mesmos não sobrevivem no meio. Contaminações por via secundária podem ser controladas via higienização adequada e boas práticas (SNOWDON e CLIVER, 1996).

3.2 HIDROMEL

Definido pela legislação brasileira, o hidromel é composto basicamente de quatro ingredientes, sendo eles o mel, água, leveduras e aditivos, porém existem variações da bebida em que são adicionados ingredientes extras para flavorização do mesmo, tais como frutas ou sucos de frutas, especiarias e temperos como baunilha, manjeriço, pimenta, canela, lúpulo, malte, que podem ser adicionadas diretamente em qualquer etapa do processo de fabricação. A depender desses ingredientes, a bebida passa a ter nomes específicos (GUPTA e SHARMA, 2009).

Melomel: Hidromel adicionado de frutas

Cyser: Hidromel adicionado de maçã e/ou suco de maçã

Pyment: Hidromel adicionado de uvas e/ou suco de uvas. Também é denominado de pyment um vinho que tenha adição de mel antes de sua etapa de fermentação

Hippocras: Pyment com temperos

Metheglin: Hidromel aromatizado com ervas e/ou temperos

Braggot: Hidromel adicionado de cereais maltados

Rhodomel: Hidromel adicionado de pétalas de rosas

Morat: Hidromel adicionado de amoras

Capsicumel: Hidromel adicionado de pimentas

3.2.1 Aditivos

De acordo com a Anvisa, um aditivo alimentar é: “*todo e qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos sem o propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas, e sensoriais...*” (BRASIL, 1997).

Para o uso em fermentados de méis, os aditivos mais comuns são aqueles que conferem características de conservação, de modo a prevenir a deterioração da bebida. São eles os sulfitos, bisulfitos e metasulfitos de sódio ou potássio (GUPTA e SHARMA, 2009).

3.2.2 Microbiologia

A espécie de levedura utilizada na etapa fermentativa tem influência direta nos aromas e sabores desenvolvidos durante o processo de fabricação da bebida, sendo os compostos formados na etapa secundária do metabolismo que conferem tais características (GUERRA, 2010).

A levedura mais comumente empregada para processos fermentativos são do gênero *Saccharomyces* devido à alta cinética fermentativa, resistência ao meio alcoólico e elevada floculação e produção de compostos que agregam tanto no sabor quanto no aroma. (GUERRA, 2010)

Quanto a flora, proveniente de origens primária e secundária, podem acabar produzindo compostos que influenciem negativamente no produto final, sendo necessário tomar medidas para inibir tais ações. (GUERRA, 2010)

3.2.3 Processamento

A forma exata de como o hidromel é feito pode variar, visto que ele é, em sua maioria, feito artesanalmente a partir de receitas empíricas, porém todos os métodos seguem basicamente uma mesma sequência de processos. O resultado do produto final é dependente de alguns fatores, como a qualidade de matérias-primas, tipos de microrganismos presentes no mel, agente fermentador e aditivos (GUPTA e SHARMA, 2009).

A etapa inicial constitui-se da elaboração do mosto adicionado de mel, água e aditivos, seguida da pasteurização para eliminação da flora concorrente, resfriamento até a temperatura de fermentação, adição das leveduras, processo fermentativo, descuba, maturação, trasfega, filtração, envase e armazenamento, como ilustrado pela Figura 1.

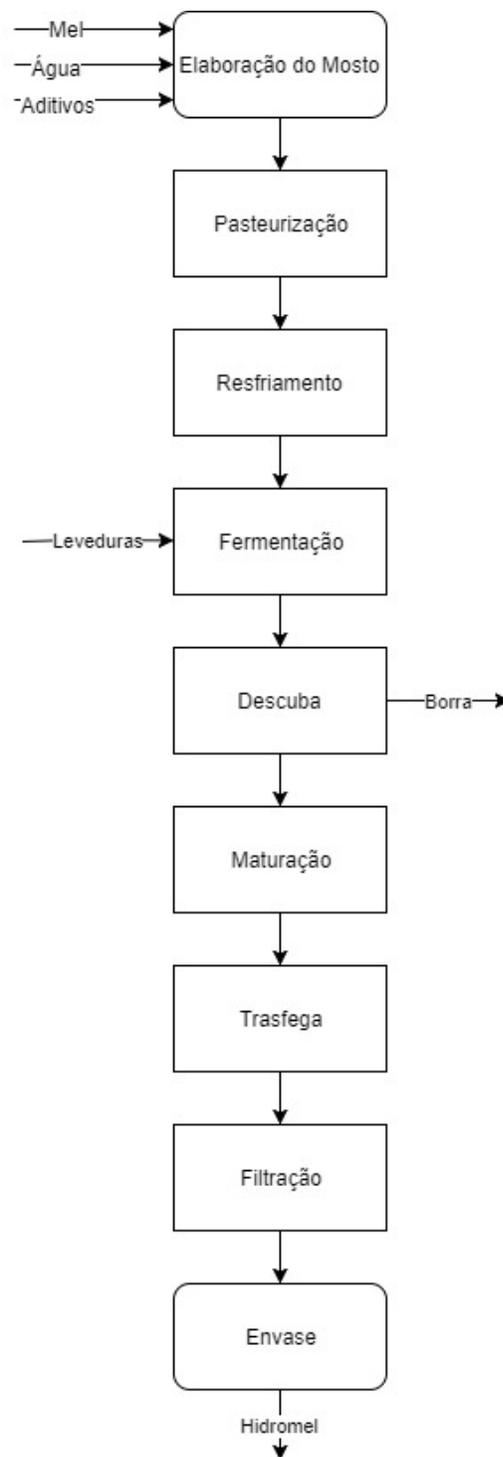


Figura 2 - Fluxograma de produção de Hidromel

Fonte: Adaptado de Gupta e Sharma (2009).

No processo de elaboração do mosto, o mel é diluído em água, podendo suas proporções serem variadas e tendo atenção ao fato de que meios com concentrações

de açúcares elevadas podem inibir a atividade fermentativa necessárias no processo seguinte. Recomenda-se diluições em proporções mel:água de 1:3 ou 1:2, sendo necessário avaliar a qual o produto final desejado. Nesta etapa também são adicionados aditivos e reguladores de pH, caso forem utilizados (GUPTA e SHARMA, 2009)

O pH do mosto deve ser estabilizado entre 3,7 e 4,0 e sua regulação deve ser feita com sais alcalinizantes, como carbonato de cálcio/potássio e bicarbonato de potássio, ou com agentes acidificantes como ácido cítrico, tartárico, ou láctico. Tais reguladores devem ser usados com parcimônia, visto que se usados em excesso podem alterar o sabor final do produto de uma maneira negativa. De acordo com Gupta e Sharma (2009), nesta etapa, nutrientes podem ser adicionados ao mosto para o favorecimento da atividade metabólica, porém os mesmos não são cruciais para a elaboração do hidromel. Vidrih e Hribar (2007) descrevem que a adição de pólen é uma excelente alternativa como fonte de nitrogênio ao mosto, o que tem efeitos sensoriais positivos no produto final.

Antes da adição dos agentes fermentativos, é recomendado o aquecimento do mosto com o intuito de pasteurizá-lo, assim inibindo atividade microbiana indesejada de eventuais organismos presentes no mel.

3.2.3.1. Etapa Fermentativa e Descuba

Nesta etapa, são adicionados ao mosto os agentes fermentativos, ou seja, as leveduras, podendo ser as mesmas cepas utilizadas na produção de cerveja e vinho, sendo a *Saccharomyces cerevisiae* a espécie mais comum. Tais eucariotas são recomendados para a produção de bebidas, devido a produção de coprodutos, além do álcool, que dão aromas e sabores benéficos, e por terem uma alta resistência ao meio alcoólico (PEREIRA, 2008).

Quanto à quantidade de leveduras a serem utilizadas para o início da fermentação, não há um consenso entre estudiosos da bebida, porém Gupta e Sharma

(2009) recomendam uma concentração de 3 a 5% m/v. Quanto maior a concentração inicial de inóculo, menor será o período de fermentação e em contrapartida a dificuldade em clareamento posterior aumenta. Pereira (2008) diz que concentrações menores de inóculo produzem maiores concentrações de compostos benéficos às características sensoriais do hidromel.

A estabilização do teor de sólidos solúveis caracteriza o fim da etapa fermentativa e a necessidade de se separar a borra de partículas em suspensão, que se depositará no fundo do recipiente. Essa separação é um processo indispensável, pois na sua ausência, a massa de partículas depositadas se torna uma fonte de contaminação, produzindo compostos prejudiciais ao palato sensorial. A separação deve ser feita de 7 a 10 dias após o término da fermentação (MANFROI, 2010).

3.2.3.2. Maturação, Tráfega, Clarificação e Envase

Após a separação entre o fermentado e o depositado, é necessário que o mesmo fique em repouso, salvo da presença de ar, de 1 a 6 meses em um vaso equipado com botoque hidráulico, a uma temperatura de 10 a 12 °C, longe do sol (GUPTA e SHARMA, 2009). Nessa etapa, a mistura irá desenvolver seus complexos aromas e sabores, sendo necessário tomar cuidado com a formação de acetato de etila, relacionada com teores de ácido acético, pois o mesmo confere odor de solvente a bebida (VIDRIH e HRIBAR, 2007). Enquanto matura, ainda existe uma certa deposição de sólidos no fundo do recipiente. A tráfega do líquido para outro recipiente após a maturação tem o intuito de separá-lo dessa borra secundária, normalmente sendo necessário de 1 a 2 tráfegas após 1 e 3 meses, respectivamente. Mesmo com as etapas de tráfega, é recomendado a clarificação por meios de filtração e/ou de agentes clarificantes, como a argila bentonita (GUPTA e SHARMA, 2009).

3.3 FERMENTAÇÃO

O processo fermentativo e o crescimento das leveduras envolvidas são influenciados por diversos fatores, tais quais: concentrações de nitrogênio, açúcares e temperatura (HEARD e FLEET 1988). Para a produção de etanol, as espécies mais recomendadas, devido a fatores como resistência ao meio e taxa de produção, são as *Saccharomyces sp.* (FLEET e HEARD, 1994).

Segundo o estudo realizado por Pereira (2008) múltiplas estirpes de *Saccharomyces cerevisiae* apresentaram comportamento idêntico quando colocadas a testes de comportamento com relação ao estresse osmótico, resistência ao etanol e compostos sulfurosos, observando que o que mais influencia no resultado final são as características do meio, como a composição do mel e os aditivos.

Apesar de principal, o etanol não é o único composto produzido pelas leveduras durante o processo de fermentação, embora indesejados pelas destilarias pois dificultam a obtenção de etanol puro, esses coprodutos são essenciais para a composição do buquê aromático e paliativo das bebidas alcoólicas (RANKINE, 1967). Entre eles estão álcoois superiores, aldeídos, ésteres e ácidos (ROMANO et al, 1992), sendo que a produção de tais compostos estão relacionados com a espécie de levedura utilizada e com a temperatura de fermentação (BILBAO et al, 1997).

Souza, Mamede, e Oliveira (2011) observaram que a produção desses compostos aromáticos foram maiores a 20°C do que em 15°C. Desses compostos, podemos citar o acetaldeído, que corresponde a 90% dos aldeídos formados e provem da descarboxilação do piruvato; álcoois superiores como o isoamílico, isobutanol, e 1-propanol são resultados do metabolismo de aminoácidos ou açúcares; ésteres, como o acetato de etila, são obtidos da reação entre álcoois, nesse caso majoritariamente o etanol e acetyl-CoA (BERRY e SLAUGHTER, 2003). Essa coprodução de compostos aromáticos nem sempre é de todo benéfico, visto que, há a formação de substâncias prejudiciais a aceitação, sendo a principal delas a formação de sulfeto de hidrogênio, cujo cheiro se remete ao de ovos podres e de acordo com Rankine (1967) seu limiar de

percepção está na faixa de 50 a 80µg por litro e sua geração está relacionada com, além dos fatores já citados, a concentração de compostos sulfurados no meio

Quanto as condições ideais do meio fermentativo, Brunelli (2015) concluiu que com o aumento da quantidade inicial de mel, houve uma maior quantidade de açúcares totais, diminuição no pH, aumento de acidez total, mais turbidez. A autora também descreve que bebidas feitas a partir de mostos com menores concentrações de açúcar (20 °Brix) apresentaram uma fermentação completa, dada a baixa taxa de açúcares redutores no produto final, já as que foram elaboradas com maiores concentrações (30 e 40 °Brix) apresentaram uma fermentação incompleta, fato observável pela quantidade elevada de açúcares redutores no hidromel final, podendo-se, então, relacionar a quantidade inicial de açúcares com seu efeito inibitório sobre as leveduras. Outro fator de extrema relevância é a temperatura em que ocorre a fermentação, Gomes et al (2013) afirma que, para as *Saccharomyces cerevisiae*, a temperatura ótima para o processo fermentativo está na faixa de 20 e 30°C, valores abaixo de 15°C, ou acima de 30°C, indicam reduções drásticas de velocidade, tendo a temperatura ideal como sendo de 24°C.

3.4 IMOBILIZAÇÃO CELULAR

O que são essas técnicas? Creio que um parágrafo inicial conceituando, ajudaria!

Técnicas de imobilização celular podem ser empregadas de modo a proteger o imobilizado de condições adversas do meio em que se encontra resguardando-o dos danos causados, aumentando a estabilidade celular e podem diminuir o custo de produção de produtos finais (CANILHA et al., 2006), pois facilita as etapas de separação e clarificação, principalmente quando se trata de bebidas alcoólicas.

Entre os diversos modos de imobilização, podemos separá-las em dois conjuntos, as que usam uma superfície em que o material de interesse a adere, promovendo uma adsorção física por meio de ligações químicas e as técnicas em que o

material é encapsulado por matrizes porosas. A escolha sobre qual técnica a ser empregada deve ser dependente de características biológicas do material a ser imobilizado, e das condições do meio em que o mesmo irá ser trabalhado, não existindo então uma solução única e universal para a imobilização celular (CANILHA et al., 2006).

A imobilização por meio de adsorção física pode ocorrer naturalmente ou induzidas artificialmente, portanto não necessitando de suportes imobilizantes, a desvantagem seria pela elevada sensibilidades e instabilidade dessas floculações. Os métodos que utilizam uma superfície para adsorção já são mais estáveis pelo fato de existirem ligações covalentes ou iônicas entre a superfície e o adsorvido (CANILHA et al, 2006).

Materiais imobilizados por encapsulamento (matrizes porosas) ocorrem pela síntese *in loco* da matriz, ao redor do material de interesse, com poros menores que as células em si. Esse aprisionamento, de acordo com Canilha (2006), pode proteger o material de condições inadequadas temperatura, pH, ou inibidores de atividade presentes no meio. Um dos métodos mais utilizados nessa categoria é o do encapsulamento em matrizes de alginato de cálcio e ocorre da seguinte maneira: uma solução contendo o material de interesse a ser encapsulado é misturado com uma solução de alginato de sódio, em seguida essa mistura é gotejada em solução de cloreto de cálcio, a rápida substituição iônica do sódio pelo cálcio resulta em esferas de alginato, sendo o tamanho das esferas controlado pelo equipamento responsável pelo gotejamento(MAUPERIN et al, 1987).

Os materiais para os métodos de imobilização celular são de uma alta diversidade, podendo ser de natureza geliforme, como alginatos, álcool polivinílico, e superfícies sólidas como vidro poroso, alumina, sílica (HELGERUD et al, 2010).

É certo afirmar que cada um desses métodos, por mais diferentes que sejam, sempre apresentarão vantagens e desvantagens em sua utilização, mas tem sempre em comum benefícios como maior controle das propriedades do meio, retenção do inóculo, facilitação na recuperação e maior grau de pureza (CANILHA et al, 2006).

Para a imobilização de *Saccharomyces sp.*, diversos materiais podem ser utilizados, como géis de alginato, carragena, alumina, sílica, como são descritos por Canilha et al (2006). As formas mais usuais de encapsulamento desses microrganismos se dão pela utilização de alginatos, pois são de alta flexibilidade e adequação ao meio em que são utilizadas (mostos de bebidas alcoólicas). Os alginatos são sais provindos de ácidos algínicos, extraídos de diversas algas marrons. Quando em contato com íons de cálcio ocorre rapidamente uma troca iônica e a formação de um gel sem que haja alterações significantes no meio promovendo uma conservação das células agora imobilizadas, entre suas vantagens podemos citar a grande disponibilidade do produto no mercado, baixo custo e viabilidade de utilização em operações de grande escala, porém, como desvantagens, sua relativa instabilidade e limitações a transferência de massa entre o interior para o exterior da esfera de alginato (HELGERUD et al, 2010).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a produção do hidromel, a levedura utilizada foi a Saflager w-34/70, com origem da Weihenstephan na Alemanha. É uma levedura muito utilizada dentro da indústria cervejeira, sua principal característica é produzir aromas de frutas e floras bem balanceados e sabores mais limpos. Sua temperatura ótima para fermentação é entre 12-15°C (Home Brewers, 2018) .

O processo de produção de hidromel seguiu o fluxograma ilustrado pela Figura 3:

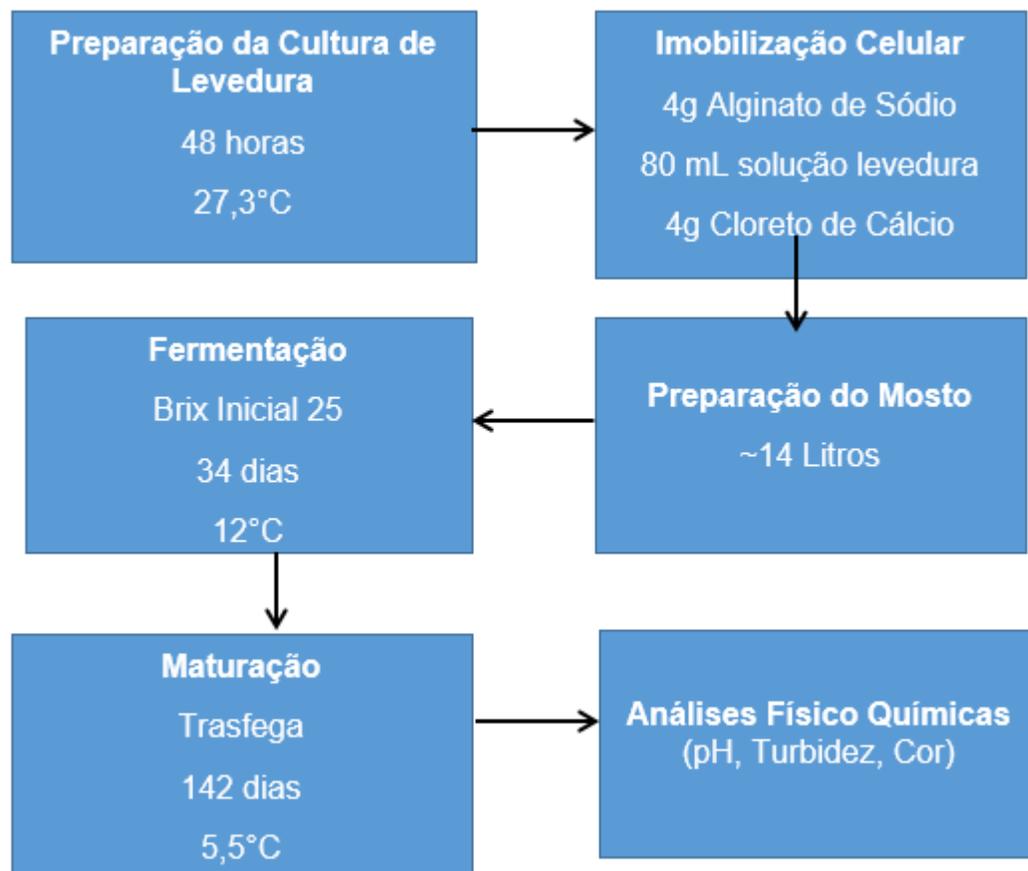


Figura 3 - Fluxograma do processo produção realizado

Fonte: Autoria própria (2018)

4.1 PREPARAÇÃO DA CULTURA DE LEVEDURA

Primeiramente foi preparado o meio de cultivo das leveduras, no qual 200mL do meio YPD (SILVA, 2009) foi colocado em um Erlenmeyer de 500mL e autoclavado por 20 minutos. Em seguida foi adicionado 1,5 gramas da levedura W34/70 e ficou por 48 horas em uma estufa a 27,3°C, esses parâmetros para o tempo de multiplicação das células foram baseados em um estudo em andamento de uma tese de mestrado que tem como objetivo encontrar os parâmetros com maior atividade de multiplicação das células de levedura.

4.2 IMOBILIZAÇÃO DA LEVEDURA

A imobilização foi realizada pelo método de encapsulamento, que consistiu no gotejamento de uma solução de alginato de sódio com as células de leveduras em uma solução de cloreto de cálcio.

A solução de alginato de sódio foi preparada pela adição de 4 gramas de alginato de sódio em um béquer de 250 mililitros contendo 200 mililitros de água destilada a 80°C, em seguida a solução foi homogeneizada utilizando um mixer. Depois de seu resfriamento à temperatura ambiente, foram adicionados 80 mililitros da cultura de levedura.

Em seguida foi preparada a solução de cloreto de cálcio, utilizando 4 gramas do sal em um erlenmeyer de 500 mililitros contendo 200 mililitros de água destilada.

O gotejamento da solução de alginato e leveduras foi realizado com uso de bomba peristáltica e mangueira de silicone estéril. Ao cair sobre a solução de cloreto de cálcio, em agitação constante, ocorreu a formação das cápsulas em forma de esferas.

4.3 PREPARAÇÃO DO MOSTO

No preparo do mosto foram utilizados 10 litros de água mineral (Royal Fit) e 5 quilogramas de mel silvestre produzido pela associação de apicultores dos Campos Gerais. O mosto totalizou 14 litros tendo 25 °. Em seguida o mesmo foi aquecido até 55°C , mantendo essa temperatura por 10 minutos com a finalidade de eliminar os microrganismos presentes. Depois da esterilização o mosto foi resfriado a 25°C em banho maria.

Na preparação das amostras, o mosto foi dividido em 2 bombonas de 10 litros, contendo 7,5 litros de mosto em cada uma. Em seguida foi adicionado cerca de 130 gramas de grão de pólen em cada amostra e, em seguida, adicionado as leveduras. Em uma bombona foi adicionado 80 mililitros da cultura preparada anteriormente e, em outra, foi adicionado as cápsulas de leveduras.

Para a coleta de amostra foram instaladas uma mangueira na tampa de cada bombona e a válvula airlock.

Em seguida as bombonas foram alocadas em uma geladeira para o processo de fermentação.

4.4 FERMENTAÇÃO

Durante o processo de fermentação foi realizado o acompanhamento da porcentagem de açúcar no mosto através do índice de refração da luz, sendo a unidade em Graus Brix, e a temperatura de cada amostra.

A coleta de amostras foi realizada através da mangueira instalada e cada uma das bombonas, no início da coleta das amostras a temperatura era medida com um termômetro digital e o índice de refração foi medido através do gotejamento das amostras no refratômetro analógico, indicando a porcentagem de açúcar presente na amostra, através da refração da luz na quantidade de sólidos da amostra (PILLING, 2018)

O processo foi realizado uma vez para cada amostra com a frequência de 2 vezes por dia, durante o período de 34 dias.

4.5 MATURAÇÃO

Para a maturação das amostras, foi realizado o processo de trasfega, que tem como objetivo de retirar a borra da amostra, esse procedimento foi realizado utilizando um sifão, que consiste em posicionar a mangueira em um nível acima do nível da borra e fazer a sucção utilizando a uma pipeta acoplada a mangueira, deixando a solução com borra na bombona e depositando a solução límpida no balão, esse procedimento foi executado para as duas amostras fermentadas, em seguida, com as soluções límpidas livre borra, foram adicionados 50 gramas de chips de carvalho em cada amostra e os balões foram fechados com a rolha com o airlock, as amostras ficaram maturando por 4 meses em uma temperatura de 10 graus Celsius.

As cápsulas de alginato de sódio com leveduras foram retiradas e armazenadas na geladeira.

4.6 ANÁLISES

4.6.1 Análise teor alcoólico

A análise de teor alcoólico foi realizada pelo processo de ebulliometria. Primeiramente foi coletado 25mL da amostra do hidromel tradicional e colocado no ebuliômetro. A amostra foi aquecida acompanhando o aumento de sua temperatura com um termômetro digital até o ponto de estabilização, o procedimento foi realizado em duplicata e, em seguida, repetido para o hidromel imobilizado.

4.6.2 Análise de turbidez e pH

A análise turbidométrica foi realizada ao final da etapa de envase, inserindo uma alíquota de 10mL no turbidímetro AP2000, o resultado é expresso em NTU (unidades nefelométricas de turbidez). Já a análise de pH foi realizada inserindo a sonda do pHmetro digital num Becker contendo 25mL de amostra.

4.6.3 Análise de cor

A análise da cor foi realizada em triplicata utilizando o iluminante D65 Ultra Scan Pro com ângulo de 10° da marca Hunter Lab, os parâmetros analisados foram: croma, luminosidade, intensidade de cor, ângulo huo (tonalidade). Para a comparação dos resultados também foi realizado uma análise das variâncias das médias ANOVA.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 ANÁLISE DE TEOR ALCOÓLICO

Durante todo o período fermentativo foi feito o acompanhamento da fermentação pela observação do consumo de substrato do meio pela levedura, transformando açúcares em etanol, entre outros produtos e pela temperatura do mosto, que seria indicativo de atividade fermentativa. Isso foi possível realizando-se duas medições do índice de refração e temperatura por dia, durante os 34 dias, como mostrado nos gráficos abaixo:

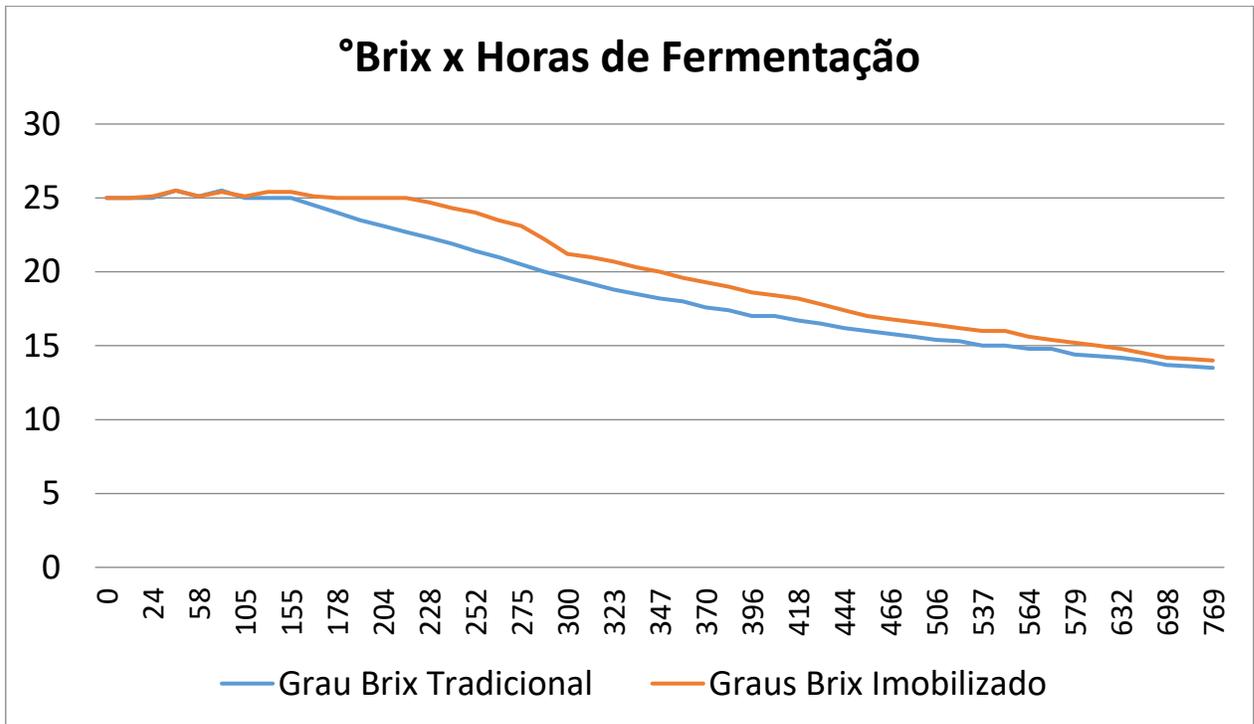


Figura 4 - Gráfico °Brix em relação ao tempo

Fonte: Autoria própria (2018)

Estudos realizados por Pereira et al (2008) e Brunelli (2015) comparando a cinética de fermentação de diferentes cepas de leveduras próprias para produção de bebidas alcoólicas não apontaram diferenças significativas na velocidade de formação de etanol, sendo então preferidas estirpes que produzam determinados aromas de interesse. Em seus estudos, as etapas fermentativas de seus experimentos duraram de 12 a 16 dias, devido a temperaturas de fermentação significativamente mais altas (18

°C) que as utilizadas neste trabalho, notando-se então a importância do desenvolvimento de um estudo posterior a fim de determinar um ponto ótimo entre temperatura de fermentação e tempo de fermentação.

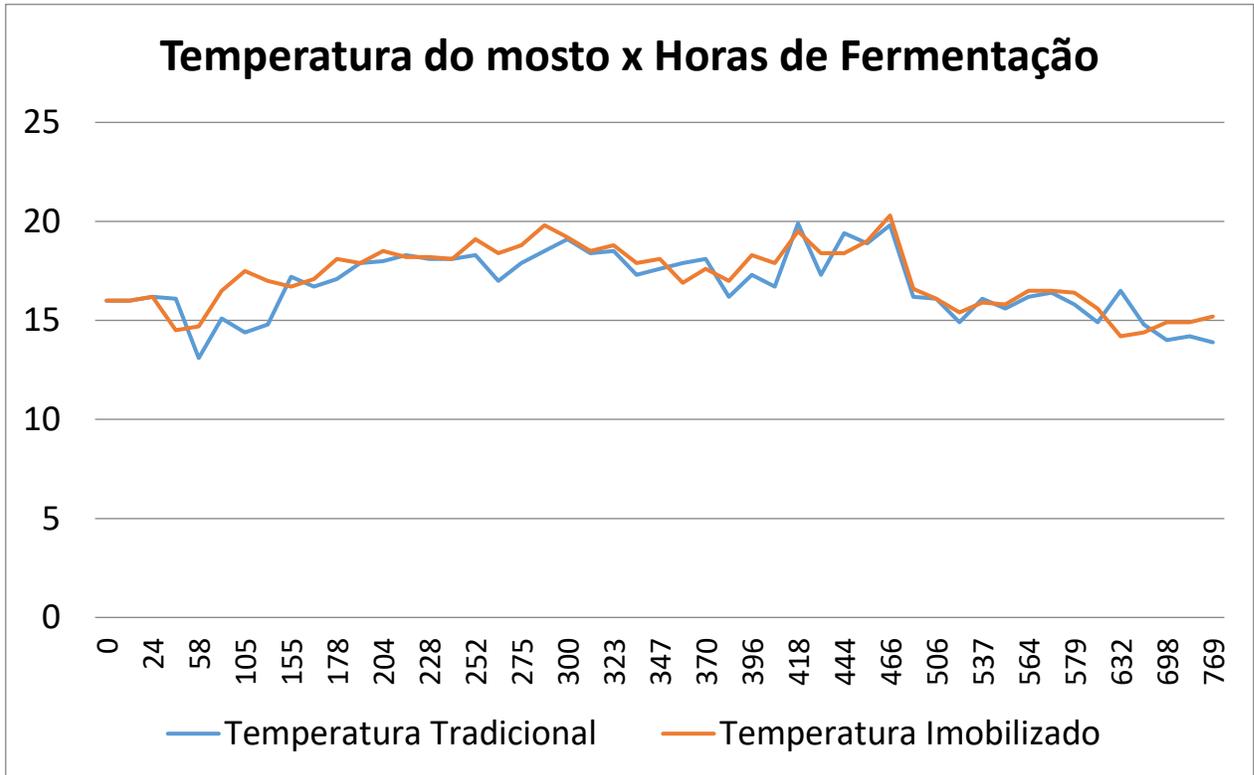


Figura 5 - Gráfico Temperatura do mosto em relação ao tempo

Fonte: Autoria própria (2018)

Nota-se no gráfico do índice de refração, um atraso no início da fermentação do hidromel encapsulado com relação à sua versão feita de maneira tradicional, assim como um consumo total de açúcares um pouco menor, atingindo um valor de 13,6 °Brix em contrapartida de sua versão tradicional atingindo 13,3 °Brix. Isso pode ter ocorrido em função do encapsulamento por alginato ter formado uma barreira, protegendo as leveduras do meio externo e retardando a permeabilidade dos açúcares na cápsula.

O volume alcoólico das bebidas pode ser determinado utilizando-se de um ebuliômetro. Para o hidromel tradicional a temperatura, nas medições, foi de 89,8 °C e para o imobilizado obtivemos temperaturas de ebulição de 90,2 °C e 90,5 °C, valores que se traduzem em um volume alcoólico de 9,6% para o tradicional e 8,7% para o imobilizado.

Ao fim dos 142 dias maturando, o teor de sólidos totais foi novamente analisado, onde pudemos notar um decréscimo do valor do índice de refração, 12,4 °Brix para o tradicional e 12,6 °Brix para o imobilizado; decréscimo esse que pode ser atribuído a formação de composto secundários, formadores do buquê de aromas do hidromel pelas leveduras.

Com relação a temperatura, ambas as amostras apresentaram um comportamento semelhante, mostrando indicativos de atividade celular similares, indicando que apesar de estarem mais isoladas do meio, as leveduras entraram em atividade fermentativa, esse fenômeno pode ser observado pelo comportamento da temperatura do mosto, onde se observa um aumento da temperatura no mesmo período de tempo onde ocorre um decaimento mais acentuado do, reforçando a ideia da alta atividade celular e ao mesmo tempo em que o consumo de açúcares decai, os valores de temperatura voltam a níveis observados no início do processo.

5.2 ANÁLISE DE TURBIDEZ

A turbidez é a propriedade de um líquido, que pode ser definido como o grau de dificuldade em que um feixe luminoso atravessa o mesmo, levando-o a uma aparência cada vez mais turva (SOUSA, 2001). Suas principais causas são partículas insolúveis em suspensão, materiais orgânicos, fragmentos celulares e microorganismos. No caso de bebidas alcoólicas, a sua causa mais provável, seriam leveduras ainda em suspensão e matéria orgânica residual de possíveis ingredientes (BRUNELLI, 2015).

Na Figura 6, um quadro revelando a turbidez de certas bebidas, assim como a dos hidromeis elaborados.

	Turbidez (NTU)	Referência
Água potável	<5	Sousa, 2001
Cerveja Lager	13,5	Brunelli, 2014
Vinho tinto	<1	Theron, 2013
Whiskey	<1	More; Malve; Toche, 2013
Hidromel Tradicional	34	Autoria própria
Hidromel Imobilizado	26	Autoria própria

Figura 6 - Quadro de turbidez de bebidas

Fonte: Aatoria própria (2018)

Relativamente alto, os níveis de turbidez presentes no hidromel podem ser relacionados aos da turbidez naturalmente alta de sua principal matéria-prima, o mel, que apresenta diversas partículas coloidais e sólidos insolúveis. Porém, a leitura mais baixa observada no hidromel feito a partir de leveduras imobilizadas, pode ser uma indicação de que o encapsulamento diminuiu a quantidade de leveduras residuais no produto final.

5.3 ANÁLISE DE PH

Os resultados com relação ao pH dos hidroméis foram iguais para ambas as amostras, onde exibiram um valor de 3,88. De acordo com Evangelista (2008), bebidas que apresentam pH abaixo de 4 podem ser consideradas ácidas, fator positivo com relação a conservação da mesma. Os valores iguais para ambas as amostras podem indicar quantidades semelhantes de ácidos acético e succínico produzidos (SROKA E TUSZYŃSKI, 2007). Sendo assim, acredita-se que o encapsulamento não teve efeitos negativos no processo de produção da bebida nesse aspecto.

5.4 ANÁLISE DE COR

A partir das médias dos resultados das amostras foi realizado a análise das variâncias ANOVA, utilizando a significância de 95%, e os resultados apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Média das análises obtidas para cada amostra de hidromel.

Amostra/resultado	Tradicional	Imobilizado	P
a*	-0,07	-0,31	0,222
b*	0,47	0,56	0,667
L*	23,66	23,51	0,017
c*	0,49	0,65	0,518
h*	91,70	115,09	0,165

Fonte: Autoria própria (2018)

Notas: a* (croma verde-vermelho), b* (croma azul-amarelo), L* (luminosidade), c* (intensidade de cor), h* (ângulo hue)

Comprovando também a diferença entre os resultados da turbidez analisada anteriormente.

De acordo com os resultados da Tabela 1, o único parâmetro que possui a diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$) é a luminosidade. Isso representa uma característica positiva para a amostra de hidromel com leveduras imobilizadas, pois fazendo a comparação com vinhos claros, a bebida deve apresentar uma característica clara e límpida e a turbidez demonstram sinais de oxidação precoce (OLIVEIRA; SOUZA; MAMEDE, 2011). Essa luminosidade mais alta também comprova a diferença entre os resultados da turbidez analisada anteriormente.

Tabela 2. Análise comparativa com bebidas fermentadas

Amostra/resultado	Tradicional	Imobilizado	Cerveja APA	Vinho Branco	Cachaça Envelhecida
a*	-0,07	-0,31	7,56	-2,02	0,73
b*	0,47	0,56	3,23	8,762	28,76
L*	23,66	23,51	16,5	80,09	94,91
c*	0,49	0,65	8,26	9,001	28,77
h*	91,70	115,09	22,93	103,62	-

Fonte: Autoria própria

A Tabela 2 mostra a semelhança nos parâmetros da análise físico química para cor. O parâmetro da luminosidade L* e também o croma azul-amarelo b* dos hidroméis produzidos são semelhantes com a cerveja APA com adição de erva mate de SANTA; SILVA; PACHECO (2015), assim como o ângulo hwo se assemelha com o Vinho Branco de OLIVEIRA; SOUZA; MAMEDE (2011) e o croma verde-vermelho com a cachaça envelhecida no carvalho de CRUZ (2016).

6 CONCLUSÃO

Considerando as análises realizadas de cinética de fermentação e características físico-químicas das amostras de hidromel produzidas, é possível concluir que o hidromel produzido a partir de leveduras imobilizadas é uma alternativa viável para sua produção, pois em comparação com as análises realizadas com a produção de hidromel tradicional, não apresentou diferenças significativas na cinética da fermentação. Em relação as características físico-químicas do produto a diferença mais significativa foi em relação a turbidez e luminosidade do produto, pois o hidromel produzido com leveduras imobilizadas se apresentou mais límpido que o hidromel tradicional sendo uma característica mais positiva em relação as bebidas segundo OLIVEIRA; SOUZA; MAMEDE (2011). Em relação as características sensoriais, o hidromel produzido de forma tradicional apresentou um sabor e um arome de álcool mais acentuado, enquanto o hidromel produzido com leveduras imobilizadas apresentou um aroma de mel um sabor mais suave, isso pode estar ligado ao fato das membranas reterem alguns subprodutos da fermentação, trazendo assim um equilíbrio diferente com o açúcar do meio externo.

Além de apresentar um produto menos turvo, o hidromel produzido a partir de leveduras imobilizadas tem como vantagem: a facilitação durante o processo produzido, principalmente na etapa de trasfega; apresenta um sabor e aroma de álcool menor em relação ao tradicional e facilita na recuperação da levedura. Todavia essa produção apresenta como desafio o conhecimento que deve ser adquirido para a imobilização das leveduras, principalmente com produtores de pequena escala artesanal.

Os resultados deste trabalho abrem possibilidades para futuras pesquisas nesse campo, como o rendimento da atividade de fermentação das leveduras encapsuladas ou o teste de concentrações diferentes para membrana das capsulas e sua influencia na fermentação.

7 REFERÊNCIAS

AL-MAMARY, Mohamed; AL-MEERI, Ali; AL-HABORI, Molham. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. **Nutrition research**, v. 22, n. 9, p. 1041-1047, 2002.

ANKLAM, Elke. 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.

Anvisa. Resolução CNNPA nº 12, de 1978. Disponível em: < http://www.anvisa.gov.br/anvisa legis/resol/12_78_mel.htm> Acesso em 30 de outubro de 2017.

A.B.E.L.H.A. Apicultura no Brasil. Disponível em: < <http://abelha.org.br/apicultura-no-brasil/>> Acesso em 29 de Outubro de 2017.

BERRY, D. R.; SLAUGHTER, J. C. Alcoholic beverage fermentations. In: Fermented beverage production. Springer, Boston, MA, 2003. p. 25-39.

BILBAO, A. et al. The effect of temperature on the growth of strains of *Kloeckera apiculata* and *Saccharomyces cerevisiae* in apple juice fermentation. Letters in applied microbiology, v. 24, n. 1, p. 37-39, 1997.

BRASIL. Decreto nº 6871 de 4 de julho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ato2007-2010/2009/decreto/d6871.htm Acesso em 30 de outubro de 2017.

BRUNELLI, Luciana Trevisan. Caracterização físico-química, energética e sensorial de hidromel. 2015.

BRUNELLI, Luciana Trevisan; MANSANO, Alexandre Rodrigues; VENTURINI FILHO, Waldemar Gastoni. Caracterização físico-química de cervejas elaboradas com mel. **Brazilian Journal of Food Technology**, p. 19-27, 2014.

CANILHA, L.; CARVALHO, W.; SILVA, JB de A. Biocatalisadores imobilizados: uso de células e enzimas imobilizadas em processos biotecnológicos. **Biotec Ciên e Desenv.** IX, v. 48, n. 36, p. 48-57, 2006.

CRANE, Eva. O livro do mel. 2. ed. São Paulo: Nobel, 1987.

CRUZ, Sara Isabel de Almeida. **Evolução da composição físico-química da aguardente vínica Lourinhã nos primeiros seis meses de envelhecimento em sistema tradicional e em sistema alternativo**. 2016. 93 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Viticultura e Enologia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2016.

DE RODRÍGUEZ, Graciela Ojeda et al. Characterization of honey produced in Venezuela. **Food Chemistry**, v. 84, n. 4, p. 499-502, 2004.

EVANGELISTA, J. Tecnologia de alimentos. São Paulo: Atheneu, 2008. 652 p.

- FINOLA, Mónica S.; LASAGNO, Mirta C.; MARIOLI, Juan M. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1649-1653, 2007.
- FLEET, G.H.; HEARD, G.M. Growth during fermentation. In: FLEET, G.H. Wine microbiology and biotechnology, 1994.
- GUERRA, C.C. Vinho Tinto. In: VENTURINI FILHO, W. G (Coord.). Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia. São Paulo: Blucher, 2010. cap. 11, p 209-233.
- GOMES, Teresa et al. Optimization of mead production using response surface methodology. **Food and chemical toxicology**, v. 59, p. 680-686, 2013.
- GASTONI FILHO, W. V. Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia. **São Paulo–SP. Editora Blucher, volume1**, 2010.
- GUPTA, J. K.; SHARMA, Rajesh. Production technology and quality characteristics of mead and fruit-honey wines: A review. 2009.
- HEARD, G. M.; FLEET, G. H. The effects of temperature and pH on the growth of yeast species during the fermentation of grape juice. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 65, n. 1, p. 23-28, 1988.
- HELGERUD, T; GAˆSERˆOD, O; FJÆREIDE, T; Andersen, PO; Larsen, CK. 2010. Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents: Alginates. ed. Almeson. United States of America, Wiley-Blackwell. p. 50-69.
- HOME BREWERS. Home Brewers. Disponível em: <<http://www.homebrewers.com.br/fermentis/44-saflager-w-3470.html>>. Acesso em: 27 out. 2018.
- IGLESIAS, A.; PASCOAL, A., CHOUPINA, A., CARVALHO, C., FEÁS, X. Developments in the fermentation process and quality improvement strategies for mead production. **Molecules**, v. 19, n. 8, p. 12577-12590, 2014.
- IURLINA, Miriam O.; FRITZ, Rosalia. Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. **International Journal of Food Microbiology**, v. 105, n. 3, p. 297-304, 2005.
- MAUPERIN, C. H. et al. Viability of an ectomycorrhizal inoculum produced in a liquid medium and entrapped in a calcium alginate gel. **Canadian Journal of Botany**, v. 65, n. 11, p. 2326-2329, 1987.
- MANFROI, V. Vinho Branco. In: VENTURINI FILHO, W. G (Coord.). Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia. 2010
- MARCHINI, Luís Carlos; DA SILVA SODRÉ, Geni; MORETI, Augusta Carolina de Camargo Carmello. **Mel brasileiro: composição e normas**. AS Pinto, 2004.
- MATTIETTO, R. de A. et al. Tecnologia para obtenção artesanal de hidromel do tipo doce. **Embrapa Amazônia Oriental-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2006.

MORE, B. P.; MALVE, M. K.; TOCHE, R. B. Determination of adulteration in suspected foreign liquors by turbidity and total dissolve solids measurements. 2013.

OLIVEIRA, Luisa Costa de; SOUZA, Sara Oliveira de; MAMEDE, Maria Eugênia de Oliveira. **Avaliação das características físico-químicas e colorimétricas de vinhos finos de duas principais regiões vinícolas do Brasil**. 2011. 70 v. Tese (Doutorado) - Curso de Tecnologia de Alimentos, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 2011.

PEREIRA, Ana Paula. **Caracterização de mel com vista à produção de hidromel**. Tese de Doutorado. Instituto Politécnico de Bragança, Escola Superior Agrária, 2008

PILLING, Sérgio. Prática 11 – Refratometria. Determinação do índice de refração de líquidos. Disponível em: <https://www1.univap.br/spilling/FQE2/FQE2_EXP11_Refratometria.pdf>. Acesso em: 27 out. 2018.

RANKINE, B. C. Formation of higher alcohols by wine yeasts, and relationship to taste thresholds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 18, n. 12, p. 583-589, 1967.

Ramalhosa, E., Gomes, T., Pereira, A. P., Dias, T., Estevinho, L. M. Mead production: Tradition versus modernity. In: **Advances in food and nutrition research**. Academic Press, 2011. p. 101-118.

RIVALDI, J. D. et al. Caracterização e perfil sensorial de hidromel produzido por *Saccharomyces cerevisiae* IZ 888. **Braz. J. Food Technol., VII BMCFB**, 2009.

ROMANO, Patrizia et al. Higher alcohol and acetic acid production by apiculate wine yeasts. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 73, n. 2, p. 126-130, 1992.

SANTA, Osmar Roberto dalla; SILVA, Mariane Daniella da; PACHECO, Abraão dos Santos. **PRODUÇÃO DE CERVEJA COM ADIÇÃO DE ERVA MATE FERMENTADA POR *Ganoderma lucidum***. 2015. 7 f. Tese (Doutorado) - Curso de Tecnologia de Alimentos, Unicentro, Guarapuava, 2015.

SILVA, A. B. Uso da levedura *Saccharomyces cerevisiae* para avaliação da toxicidade celular induzida por mini implantes ortodônticos. 2009. 370 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biociências, Puc-rs, Rio Grande do Sul, 2009.

SILVA, CL da; QUEIROZ, AJ de M.; FIGUEIRÊDO, RMF de. Caracterização físico-química de méis produzidos no Estado do Piauí para diferentes floradas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 8, n. 2/3, p. 260-265, 2004.

SNOWDON, Jill A.; CLIVER, Dean O. Microorganisms in honey. **International journal of food microbiology**, v. 31, n. 1-3, p. 1-26, 1996.

CARLOS, Geni da Silva Sodrél Luís et al. Caracterização físico-química de amostras de méis de *Apis mellifera* L.(Hymenoptera: Apidae) do Estado do Ceará. **Ciência Rural**, v. 37, n. 4, 2007.

SOUSA, Eduardo R. Noções sobre qualidade da água. **Lisboa: IST**, 2001.

SROKA, Paweł; TUSZYŃSKI, Tadeusz. Changes in organic acid contents during mead wort fermentation. **Food Chemistry**, v. 104, n. 3, p. 1250-1257, 2007.

THERON, Charl. The filterability of wine. **WineLand**, África do Sul, jul. 2013. Disponível em: < <https://www.wineland.co.za/the-filterability-of-wine/> >. Acesso em: 27/10/2018

VARGAS, Taís. Avaliação da qualidade do mel produzido na Região dos Campos Gerais do Paraná. **Ponta Grossa. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia em Alimentos) Universidade Estadual de Ponta Grossa**, 2006.

VIDRIH, Rajko; HRIBAR, Janez. Studies on the sensory properties of mead and the formation of aroma compounds related to the type of honey. **Acta alimentaria**, v. 36, n. 2, p. 151-162, 2007.

WHITE JR, Jonathan W. Honey. In: **Advances in food research**. Academic Press, 1978. p. 287-374.