

# UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO CENTRO DE BIOCIÊNCIAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



RAYSSA KARLA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA E OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO FERMENTATIVO DE LEVEDURAS COMERCIAIS NA PRODUÇÃO DE HIDROMEL

Recife

2023

# RAYSSA KARLA SILVA

# CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA E OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO FERMENTATIVO DE LEVEDURAS COMERCIAIS NA PRODUÇÃO DE HIDROMEL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas

Área de concentração: Biotecnologia

Orientador: Profo. Dr. Marcos Antonio de Morais Jr.

Coorientador: Profo. Dr. Rafael Barros de Souza

Recife

#### Catalogação na Fonte: Bibliotecária Natália Nascimento, CRB4/1743

Silva, Rayssa Karla.

Caracterização da matéria-prima e otimização do processo fermentativo de leveduras comerciais na produção de hidromel. / Rayssa Karla Silva. – 2023.

104 f.: il., fig.; tab.

Orientador: Marcos Antônio de Morais Jr. Coorientador: Rafael Barros de Souza.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Ciências biológicas, 2023. Inclui referências.

1. Mel. 2. Bebidas alcóolicas. 3.Fermentação. 4. Protocolo de fermentação. I. Morais Jr., Marcos Antônio de. (orient.). II. Souza, Rafael Barros. (Coorient.). III. Título.

587 CDD (22.ed.) UFPE/CB – 2023-101

## RAYSSA KARLA SILVA

# CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA E OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO FERMENTATIVO DE LEVEDURAS COMERCIAIS NA PRODUÇÃO DE HIDROMEL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 28/02/2023

# **BANCA EXAMINADORA**

Prof°. Dr. Marcos Antonio de Morais Jr (Orientador)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof°. Dr. Maria Betânia Melo de Oliveira (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof<sup>o</sup>. Dr. Emmanuel Damilano Dutra (Examinador Externo)

Universidade Federal de Pernambuco

Dedico esse trabalho a minha família, amigos e principalmente a todos que apoiam e acreditam na ciência.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família pelo apoio durante todos os momentos da minha vida, em especial aos meus pais, padrasto e meu irmão;

A todos os membros do Laboratório de Metabolismo Microbiano da Universidade de Pernambuco (UPE) e Laboratório de Genética de Microrganismos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) pelo suporte e contribuições que auxiliaram a minha caminhada até aqui, em especial aos meus companheiros de bancada;

Aos meus orientadores, Marcos Morais e Rafael Barros, pelo suporte e pelos ensinamentos, ao longo desses anos, não apenas no mestrado, mas desde a iniciação científica.

Aos meus amigos que caminharam comigo, de perto e longe pela amizade e pelo apoio;

A Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do estado de Pernambuco (FACEPE) pelo suporte financeiro através da bolsa de mestrado;

As instituições de pesquisa e ensino UPE e UFPE, no qual me orgulho muito de fazer parte.

Aos apicultores do estado de Pernambuco que gentilmente forneceram amostras e informações sobre a setor, em especial àqueles das Associações de apicultores de Serra Talhada, de Mirandiba e de São José do Belmonte.

#### RESUMO

Hidromel é uma bebida alcoólica obtida através da fermentação de uma solução de mel de abelha, conhecida como uma das primeiras bebidas alcoólicas já produzida pela humanidade. Apesar de antiga e possuir um processo de produção relativamente simples, essa bebida enfrenta alguns entraves de produção que tornam seu processo fermentativo lento e suscetível a diversos problemas. A variação das características da matéria-prima, a falta de uma linhagem adequada e a escassez de nutrientes essenciais, fazem com que o processo seja oneroso para os produtores. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar as principais características do processo, desde a caracterização da matéria-prima até a seleção de uma linhagem de levedura adequada, com o intuito de desenvolver um protocolo de produção adequado. Para isso, foram realizadas análises físico-químicas para avaliar as características dos méis do Sertão e Agreste de Pernambuco, e ensaios com linhagens de levedura comerciais para avaliar a mais adequada. Foi observado que os méis possuem propriedades interessantes, com alto potencial antioxidante e alto teor proteico, que pode proporcionar uma melhor fermentação devido a necessidade da levedura por fontes nitrogenadas para completar a fermentação. Dentre as linhagens testadas, a levedura industrial Saccharomyces cerevisiae JP1 se mostrou a melhor na velocidade de atenuação dos carboidratos. Apesar de iniciais, os estudos se mostram promissores para desenvolver um protocolo de produção adequado às características inerentes da matéria-prima.

Palavras-chave: Mel; Bebidas alcóolicas; Fermentação; Protocolo de fermentação.

#### **ABSTRACT**

Mead is an alcoholic beverage produced through the fermentation of a honey's bee solution and it is known as one of the first alcoholic beverages produced by humanity. Despite being old and having a simple production process, this drink faces some obstacles that make its fermentation process slow and susceptible to several problems. The variation in the characteristics of the honey, the lack of an appropriate yeast strain and the shortage of essential nutrients make the process costly for the producers. Therefore, the present work aimed to evaluate the main characteristics of the process, from the characterization of the honey until the selection of a proper yeast strain, with the aim of developing an adequate production protocol. For this, physical chemical analyzes were carried out to evaluate the characteristics of the honeys from Sertão and Agreste of Pernambuco, and tests with commercial yeast strains to define the most appropriate one. It was observed that the honeys have interesting properties, with high antioxidant potential and high protein content, which can provide a better fermentation due to the yeast's need for nitrogen sources to complete de fermentation process. Among the strains tested, the industrial yeast Saccharomyces cerevisiae JP1 proved to be the best in the rate of carbohydrate attenuation. Despite being initial, the studies show promise for developing a production protocol suited to the inherent characteristics of the raw material.

**Keywords:** Honey; Mead; Fermentation Fermentation protocol.

#### LISTA DE FIGURAS

# Fundamentação teórica

Figura 1 – Fluxograma de produção de hidromel: (1) Armazenamento 29 do mel; (2) Preparação do mosto; (3) Fermentação; (4) Maturação; (5) Acabamento da bebida e (6) Envase.

# Artigo 1:

- Figura 1 Mapa do estado de Pernambuco evidenciando o número de amostras por área de coleta. Microrregião do Sertão do Moxotó (verde). Microrregião do Sertão do Pajeú (Azul). Microrregião do Vale do Ipojuca (Iaranja).
- Figura 2 Coloração dos méis de abelha coletados no Sertão do Pajeú (HS1 até HS14), Agreste (HS17 até HS19) e Sertão do Moxotó (HS15, HS16, HS20 até HS22) do Estado de Pernambuco e amostra comercial (HS23).
- Figura 3 Avaliação da correlação entre as análises realizadas nas 50 amostras dos méis

## Artigo 2:

- Figura 1 Perfil cinético de fermentação do mosto de mel por 70 linhagens comerciais de *Saccharomyces cerevisiae* empregadas na produção de vinhos (paineis A-D) e de cachaça (paineis E, F). Foram determinados o consumo de sacarose (círculo vermelho), Glicose (círculo bege) e Frutose (círculo verde) e a produção de etanol (círculo azul) e glicerol (círculo roxo).
- Figura 2 Capacidade fermentativa de linhagens comerciais de 71

  Saccharomyces cerevisiae utilizadas na produção de vinhos e cachaça medid pela produção e etanol (painel A) e produtividade volumétrica de etanol (painel B) em mosto de mel do sertão de Pernambuco. Foram testadas as linhagens JP1 (círculo vermelho), TR-313 (círculo azul),

#### LISTA DE FIGURAS

Côte des blancs (círculo verde), Lalvin (círculo branco); Premier Classique (círculo laranja) e CA-11 (círculo roxo).

- Figura 3 Teste de inibição da atividade invertase da linhagem 72

  Saccharomyces cerevisiae JP1. (A) o sobrenadante rico em invertase foi misturado em mosto de mel ou mosto sintético e a concentração de açúcares ao final de 1 hora foi determinada. (B) Cinética de consumo da sacarose em mosto de mel (círculo preto) e em análogo de mel (círculo cinza) por células da linhagem JP1.
- Figura 4 Efeito da suplementação com amônio do mosto de mel do 73 sertão de Pernambuco sobre o perfil fermentativo da levedura Saccharomyces cerevisiae JP1. (A) Consumo dos açúcares e produção de etanol e glicerol. (B) Comparação da produção de etanol entre o mosto de mel sem suplementação (círculo bege) e com suplementação (círculo azul).
- Figura 5 Efeito do aumento da carga de levedura sobre a cinética de 74 fermentação do mosto de mel do sertão de Pernambuco pela levedura Saccharomyces cerevisiae JP1.
- Figura 6 Efeito do aumento da carga de levedura na fermentação do 75 mosto de mel do sertão de Pernambuco pela levedura Saccharomyces cerevisiae JP1. (A) Cinética de fermentação em mosto de mel com células imobilizadas. (B) Comparação da turbidez dos hidroméis produzidos com células imobilizadas e células livres nas diferentes condições testadas

# LISTA DE TABELAS

# Fundamentação teórica

Tabela 1 –	Produção de mel (toneladas) por região no Brasil nos anos de 2016 à 2019	20
Tabela 2 –	Produção de mel (toneladas) por estado no Nordeste entre 2016 e 2019	21
Tabela 3 –	Ranking de produção mundial de mel nos últimos anos pelos principais produtores	23
Tabela 4 -	Quantidade (em toneladas) de mel exportado no ano de 2019 pelos principais exportadores	24
Tabela 5 -	Parâmetros legislativos brasileiro referente a qualidade dos méis produzidos no país	26
Artigo 1:		
Tabela 1 –	Catalogação das amostras de mel coletadas	38
Tabela 2 –	Parâmetros físico-químicos analisados nas amostras de méis do Sertão do Pajeú (HS1 até HS14), Agreste (HS17 até HS19) e Sertão do Moxotó (HS15, HS16, HS20 até HS22) do Estado de Pernambuco e amostra comercial (HS23).	45
Tabela 3 –	Teor de carboidratos totais e frações presentes nos méis do Sertão do Pajeú (HS1 até HS14), Agreste (HS17 até HS19) e Sertão do Moxotó (HS15, HS16, HS20 até HS22) do Estado de Pernambuco e amostra comercial (HS23).	46
Tabela 4 -	Valores de proteínas e peptídeos totais, HMF e atividade diastásica encontrados nos méis do Sertão do Pajeú (HS1 até HS14), Agreste (HS17 até HS19) e Sertão do Moxotó (HS15, HS16, HS20 até HS22) do Estado de Pernambuco e amostra comercial (HS23).	47

# LISTA DE TABELAS

Tabela 5 -	Análises de atividade antioxidante e de teor de fenóis, flavonóis e flavonoides totais do Sertão do Pajeú (HS1 até HS14), Agreste (HS17 até HS19) e Sertão do Moxotó	49
	(HS15, HS16, HS20 até HS22) do Estado de	
	Pernambuco e amostra comercial (HS23).	
Tabela 6 -	Valores médios (com valores mínimos e máximos) da composição do mel de diferentes regiões do Brasil	53
Artigo 2:		
Tabela 1 -	Linhagens de leveduras utilizadas para produção de hidromel	65
Tabela 2 –	Características do mosto de mel do sertão de PE	68
	fermentado (hidromel) por diferentes linhagens	
	comerciais de Saccharomyces cerevisiae	
Tabela 3 –	Impacto econômico da alteração da linhagem de levedura	76

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Al Condição com alta densidade celular

BCA Ácido bicinconínico

DPPH 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations

(Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura)

FRAP Ferric Reducing Antioxidant Power

FM Fosfomolibdênio

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IN Instrução Normativa

HMF 5-Hidroximetilfurfural

HPLC High performance liquid chromatography (Cromatografia líquida de

alta performance)

HS Honey sample (Amostra de mel)

MAPA Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

# SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GERAL	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1	BEBIDAS FERMENTADAS	17
3.2	HIDROMEL	17
3.3	CENÁRIO MUNDIAL DA PRODUÇÃO DE MEL E HIDROMEL	19
3.3.1	Apicultura	19
3.3.2	Aspectos gerais da produção de mel	19
3.3.3	Aspectos gerais da produção de hidromel	24
3.4	PROCESSO DE PRODUÇÃO DE HIDROMEL	25
3.4.1	Matérias-primas	25
3.4.1.1	Características gerais do mel	25
3.4.1.2	Levedura	27
3.4.1.3	Outras matérias-primas	28
3.4.2	Etapas do processo	28
3.4.2.1	Fluxograma do processo	28
3.4.2.2	Etapas pré-fermentação	29
3.4.2.3	Fermentação	30
3.4.2.4	Etapas pós-fermentação	30
3.4.3	Principais entraves da produção	31
3.5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	32
4	RESULTADOS	33
4.1	ARTIGO 1: ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO MEL DE ABELHA ( <i>Apis mellifera</i> ) DO AGRESTE E SERTÃO PERNAMBUCANO E SEU POTENCIAL PARA PROMOÇÃO DE PRODUTOS COM ALTO VALOR AGREGADO	33
4.2	ARTIGO 2: FERMENTAÇÃO DO MEL DE <i>Apis mellifera</i> DO SEMIÁRIDO DE PERNAMBUCO PARA PRODUÇÃO DE HIDROMEL: DA SELEÇÃO DE LEVEDURA A AJUSTES DO PROCESSO	61
5	CONCLUSÕES	84
6	SÚMULA CURRÍCULAR	85
	DEEEDÊNCIAS	86

# SUMÁRIO

APÊNDICE A – CAPÍTULO DE LIVRO PUBLICADO: DESAFIOS DA PRODUÇÃO DE HIDROMEL NO BRASIL: PROCESSAMENTO E LEGISLAÇÃO BRASILEIRA 91

# 1 INTRODUÇÃO

Hidromel é uma bebida alcoólica milenar obtida através da fermentação de uma solução de mel de abelha, podendo ou não conter a adição de sais nutrientes. Contudo, apesar de ser uma das bebidas mais antigas conhecida pelos humanos, o consumo de hidromel passou por um período de baixa, principalmente devido ao surgimento de outras bebidas alcoólicas mais baratas de serem produzidas (GUPTA; SHARMA, 2009; RAMALHOSA *et al.*, 2011). Contudo, o ressurgimento da procura pela bebida, mesmo nos países onde não há histórico de consumo, impulsionado principalmente devido as recentes aparições na indústria cinematográfica, tem se mostrado cada vez mais crescente (BARBOSA; MARTINS, 2017).

No Brasil, o hidromel apresenta um grande potencial de produção por apresentar uma produção de mel, principal matéria-prima, expressa e um consumo per capita desse mel relativamente baixo, fazendo com que o escoamento desse mel seja principalmente realizado através da exportação. O mel brasileiro é considerado um dos méis de melhor qualidade no mercado internacional, e, portanto, têm valores mais elevados quando comparado a méis produzidos em outros países (IBGE, 2019; VIDAL, 2019). No entanto, a dependência quase que exclusiva da exportação mostrase arriscada, já que não haveria forma de escoamento para essa produção caso o mel brasileiro perdesse espaço no cenário internacional. Portanto, a necessidade de fontes alternativas vem se tornando cada vez mais necessária. Nesse contexto, a produção de hidromel tem se mostrado cada vez mais atraente, não apenas para dar destino à produção de mel, mas também como forma de agregar valor à matéria-prima (VIDAL, 2019).

Porém apesar de simples, a produção de hidromel enfrenta alguns gargalos que vão desde as características intrínsecas do mel, quem podem variar drasticamente de acordo com a região, espécie de abelha e origem botânica, como também a ausência de um protocolo adequado de produção, a inexistência de uma linhagem de levedura adequada, entre outros fatores. Isso pode ocasionar fermentações muito longas e muitas vezes incompletas (SROKA; TUSZYNSKI, 2007; PEREIRA et al., 2009). Nesse contexto, o presente trabalho teve como principal objetivo desenvolver um protocolo de produção adequado de hidromel, avaliando as necessidades inerentes ao processo para pôr fim otimizar a produção garantindo a qualidade do produto.

## **2 OBJETIVOS**

# 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um processo para produção de hidromel a partir do mel proveniente da apicultura do Agreste e Sertão do estado de Pernambuco.

# 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os principais parâmetros físico-químicos e a composição nutricional dos méis do Agreste e Sertão de Pernambuco.
- Avaliar o perfil de fermentação de diferentes linhagens de leveduras comerciais para produção de hidromel
- Determinar os efeitos da alteração de parâmetros de processo no desempenho fermentativo para otimizar o processo de produção de hidromel

# 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 BEBIDAS FERMENTADAS

As bebidas fermentadas sempre foram elementos presentes e amplamente disseminados desde os povos antigos. Algumas dessas bebidas, como a cerveja, hidromel, vinho, entre outras, são amplamente conhecidas e consumidas até os dias atuais. A produção de diferentes bebidas ocupa um lugar de destaque em diversas culturas e geralmente estão associadas a cerimônias e rituais religiosos (VENTURINI FILHO et al, 2016). Existem vários indícios da produção de bebidas ao longo da história em várias regiões do mundo, desde os egípcios, romanos, gregos, e outras civilizações. Textos antigos relatam o uso de bebidas até mesmo com intuito medicinal, para pessoas depressivas ou com doenças terminais (MORAES, 2018).

No Brasil, assim como em diversos países e culturas, o consumo de bebidas está atrelado a vários aspectos culturais e vem em constante crescimento nos últimos anos, com previsão de que em 2024 o país alcance 12,6 bilhões de litros consumidos. Em 2020, no país foram produzidos aproximadamente 18 bilhões de litros de bebidas fermentadas, entre vinho, cerveja, hidromel, entre outras bebidas (IBGE, 2022). Apesar da cerveja figurar em primeiro lugar no quesito consumo, essa bebida vem perdendo espaço para outras nos últimos anos (VIANA, 2020).

A produção de bebidas fermentadas requer um processo relativamente simples, onde o açúcar é transformado em álcool etílico, gás carbônico e outras substâncias, denominado fermentação. Esses açúcares podem ser obtidos de diversas matrizes, inclusive o mel, substância majoritariamente formada por carboidratos. Desde a antiguidade o mel era utilizado como adoçante natural, além de ter outras aplicações, portanto, nada mais natural o surgimento de uma bebida fermentada a partir dessa matriz: o hidromel (MORAES, 2018).

## 3.2 HIDROMEL

Hidromel é uma bebida alcoólica obtida através da fermentação de uma solução de mel de abelha, eventualmente suplementado com sais nutrientes, com graduação alcoólica final entre 4 e 18 % dependente da legislação e/ou costume do país de origem (BRASIL, 1994; GUPTA; SHARMA, 2009). É definida a bebida

fermentada mais antiga produzida pela humanidade pela facilidade de produção, sendo considerada até como precursora da cerveja. Tradicionalmente, o hidromel seria apenas utilizando mel, porém, com o passar do tempo, variações da bebida começaram a surgir, com o acréscimo de ervas, frutas, entre outras matérias-primas (GUPTA; SHARMA, 2009).

Nas Américas, o hidromel foi produzido de forma independente por diversos povos, como os Maias (MORAES, 2018; RIBEIRO et al., 1986). No Brasil, o hidromel começou a ser produzido por diversas tribos indígenas e recebeu diversas nomenclaturas ao longo da história (VENTURINI FILHO et al., 2016). Apesar de ser considerada uma bebida milenar e de muita popularidade na idade média, a produção de hidromel passou por um período de esquecimento. Entretanto, mais recentemente a prática voltou a ter destaque no mercado internacional de bebidas. No Brasil, apenas uma pequena parte da população tem conhecimento acerca da produção do hidromel e, com isso, a comercialização e consumo da bebida ainda enfrenta dificuldades. A legislação que rege o mercado de hidromel data de 1994 e poucas atualizações foram implementadas desde então, impossibilitando a comercialização da bebida de forma regulamentada por muitos dos pequenos produtores (BRASIL, 1994; BRASIL, 2009; BRASIL, 2012). Outro grande desafio para produção dessa bebida em escala comercial é a falta de padronização da matéria-prima, uma vez que o mel sofre drásticas mudanças de acordo com o clima da região, espécie da abelha, florada, e a colheita. Além disso, concorrem para esse contexto a ausência de linhagens de levedura específicas para a produção de hidromel e algumas características intrínsecas do mel, como escassez de alguns nutrientes essenciais para o metabolismo fermentativo (SROKA; TUSZYNSKI, 2007; PEREIRA et al., 2009).

Mesmo com os entraves apontados acima, a produção de hidromel no Brasil tem mostrado crescimento expressivo nos últimos anos. O potencial de crescimento ainda maior é apontado muito em função da facilidade operacional, uma vez que o processo pode ser realizado até em microcervejarias sem a alterações drásticas na planta industrial. Somado a isso, tem-se que a produção de mel é bastante vasta e mostra sinais de crescimento, o que implica em abundância de insumo pelo fato de que o consumo do mel *in natura* no país é extremamente baixo (IBGE; VIDAL, 2019).

# 3.3 CENÁRIO MUNDIAL DA PRODUÇÃO DE MEL E HIDROMEL

# 3.3.1. Apicultura

A apicultura consiste na criação de abelhas com ferrão da espécie *Apis mellifera* com o intuito de produzir mel, pólen apícola, própolis, cera de abelha, geleia real e apitoxina, e possui um caráter econômico, social e ecológico importante para a sustentabilidade (SMITH, 2015; ALEMU et al., 2015). É uma atividade agrícola de baixo impacto ambiental que possibilita a utilização dos recursos naturais de forma permanente e sem causar danos, uma vez que as abelhas são os principais polinizadores e auxiliam na manutenção da vegetação nativa, ainda estimula os praticamente a preservarem esses recursos. Essa prática é uma das atividades zootécnicas que mais cresceu nos últimos anos por apresentar inúmeros benefícios quando comparado a outras atividades. No Brasil, a prática possui ainda mais vantagem devido a diversidade de plantas melíferas, pode ser realizada em áreas com diversas condições climáticas, possui um baixo custo de implementação e manutenção, além de apresentar uma diversidade de produtos que podem ser oriundos dessa atividade (DE PAULA-NETO et al., 2006).

# 3.3.2. Aspectos gerais da produção de mel no Brasil e no mundo

Em 2009 o Brasil superou o seu recorde de exportação de mel, gerando uma receita superior a 65 milhões de dólares (SABBAG; NICODEMO, 2011). A produção de mel no Brasil, ocorre predominantemente nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste, tendo esse último ocupado o segundo lugar em produção nos últimos anos, mesmo com a seca que atingiu a região (Tabela 1). Portanto, a apicultura na região Nordeste tem também aspectos sociais bastante relevantes, já que a escassez de água limita a práticas de outras atividades econômicas rentáveis. De acordo com Vidal (2018), o nordeste do Brasil devido às suas características de clima e vegetação é favorável a produção de mel de *Apis mellifera*, sendo uma das atividades zootécnicas que mais cresceu na região na década de 2000, permitindo a região uma elevada

competitividade no mercado Internacional. No entanto, a partir de 2011 essa produção teve uma redução significativa devido principalmente a um período prolongado de seca (VIDAL, 2018). Em 2014 e 2017, a produção de mel no Nordeste deu sinais de recuperação, embora em 2017 a produção tenha sido 20% inferior ao ano 2011, um ano antes da seca (VIDAL, 2019).

Tabela 1 - Produção de mel (tonelada) por região no Brasil nos anos de 2016 à 2019.

Brasil e		Produção por ano							
Regiões	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Norte	946	926	934	1.052	948	905	803	890	1.023
Nordeste	16.911	7.700	7.534	10.555	12.305	10.458	12.806	14.236	15.757
Sudeste	6.339	7.084	7.595	8.729	8.899	9.467	9.634	9.234	9.839
Sul	16.181	16.659	17.738	16.463	14.119	17.146	16.481	16.488	17.571
Centro-Oeste	1.416	1.562	1.564	1.683	1.587	1.699	1.972	1.529	1.790
Brasil	41.793	33.931	35.365	38.481	37.859	39.677	41.696	42.378	45.981

Fonte: IBGE, 2022

Apesar dessa variação, a produção mundial de mel de abelhas tem apresentado crescimento, em especial no Brasil, com destaque para o mel produzido no Nordeste, considerado mel orgânico. A cadeia produtiva de mel é composta por mais de 300 mil apicultores e uma centena de unidades de processamento, gerando 500 mil empregos temporários ou permanentes. Em 2004 a produção nacional de mel foi de 32 mil toneladas, e, aliada a produção de 1,6 mil toneladas de cera, gerou mais de 42 milhões de dólares de divisas com a exportação (QUEIROGA et al, 2015). Em 2009, de acordo com dados do IBGE, o Brasil alcançou uma produção de mel acima de 30 mil toneladas, uma produção estimulada pela demanda internacional e pelo fim do embargo da comunidade europeia em 2008, fato que marcou a retomada da participação do Brasil em um mercado de 12 bilhões de euros (MIKI et al, 2011).

No Nordeste a produção de mel representou 14% da média nacional em 1999, passando para 39% no ano de 2009, destacando-se os estados do Ceará com uma produção de 4.734 toneladas, Piauí com 4.278 toneladas, Bahia 1.922, Pernambuco com 1.594 toneladas e Rio Grande do Norte com 1.107 toneladas. Os estados do Maranhão, Alagoas e Sergipe produziram menos de 1.000 toneladas/ano. No ranking

nacional, o Ceará ocupava o 3º lugar, ficando abaixo apenas do Rio Grande do Sul e do Paraná. O Piauí é o 5º maior produtor, a Bahia o 8º e Pernambuco o 9º (MIKI et al, 2011). Esses dados revelam o potencial da região Nordeste para a produção apícola. Em 2017 a produção nacional de mel foi de 41,6 mil toneladas (VIDAL, 2019), um crescimento de cerca de 300% quando comparada a produção no ano de 1999.

Embora o Nordeste seja um dos maiores produtos de mel no país, a região sofreu um período de seca prolongada que afetou drasticamente a produção durante o ano de 2012, seguido por um período de chuvas irregulares que durou cinco anos, que ocasionou uma queda drástica no volume produzido, chegando a uma redução de aproximadamente 54,48% do volume total de 2011. O setor apenas apresentou sinais de recuperação entre os anos de 2014 e 2017, mesmo que a produção em volume tenha sido 20% inferior a 2011, um ano antes da seca (Tabela 2) (VIDAL, 2019; IBGE, 2021). Apesar disso, verifica-se que mesmo que os dois maiores estados produtores de mel no ano de 2009 estejam na região Sul, os três maiores municípios produtores de mel se localizam na região Nordeste: Limoeiro do Norte (CE) com produção de 600 toneladas/ano, Araripina (PE) com produção de 580 toneladas e Apodi (RN) com 506 toneladas (MIKI et al, 2011). Esses dados mostram que a atividade apícola apresentava na época um grande potencial de crescimento, o qual foi interrompido pela seca que teve início no ano de 2012 e que se estendeu por mais cinco anos (Vidal, 2018).

Tabela 2 - Produção de mel (tonelada) por estado no Nordeste entre 2016 e 2019.

Estado	Produção por ano					
Estado	2016	2017	2018	2019		
Maranhão	1.711	2.356	2.262	2.337		
Piauí	3.049	4.405	5.225	5.024		
Ceará	1.149	1.776	2.113	2.677		
Rio Grande do Norte	204	175	301	414		
Paraíba	157	156	199	200		
Pernambuco	372	256	616	769		
Alagoas	169	216	265	331		
Sergipe	68	58	41	61		
Bahia	3.579	3.407	3.213	3.942		

Fonte: IBGE

De acordo com dados do IBGE, a produção de mel em 2009 gerou valores na ordem 220 milhões de reais, com uma grande participação do mercado nordestino que absorveu grande parte da produção (MIKI et al, 2011). No Brasil, a aquisição per capita era de 0,035 Kg/ano em 2002 e subiu para 0,048 Kg/ano em 2008. Em 2017, o consumo de mel no Brasil foi 0,070 Kg/pessoa/ano, um dos menores consumos per capita do mundo, bem inferior a Alemanha onde o consumo é superior a 1,0 Kg/pessoa/ano. Nos Estados Unidos, principal destino do mel brasileiro, o consumo é 0,600 Kg/pessoa ano (VIDAL, 2019). Esse cenário mostra que a população brasileira consume cerca de 14.000 toneladas/ano, apenas um terço da produção nacional do ano de 2017. Curiosamente, ao subdividir a obtenção de mel entre as áreas urbanas e rural, Miki et al (2011) verificaram uma tendência inversa em comparação entre os cenários nacional e regional. Enquanto o Brasil apresenta sinais de "urbanização, com aumento da aquisição do produto na zona urbana e queda no meio rural, na Região Nordeste ocorre o inverso.

Sabbag e Nicodemo (2011), avaliaram a viabilidade econômica para a produção de mel em uma propriedade familiar com um plantel de 200 colmeias completas e verificaram que o investimento total para a produção de mel seria de 97.093,00 reais, sendo que os materiais utilizados com maior intensidade no sistema produtivo foram a cera bruta e o alimento energético que representaram 41 e 29% do custo operacional efetivo, respectivamente. Em geral, os insumos contribuíram com 70% do custo operacional efetivo e 26% do custo operacional total. Com relação aos parâmetros de produtividade para a produção exclusiva de mel, para o caso do Nordeste, dispensando a produção de cera, pólen, própolis além de outros produtos derivados, De Paula Neto e Almeida Neto (2006) consideraram o valor factível de 40 Kg/colmeia/ano, em condições ótimas de pasto apícola e sem superpovoamento da área, mesmo considerando que a média nacional seja de 15 Kg/colmeia/ano.

O mel brasileiro é considerado, no mercado internacional, como de extrema qualidade principalmente o mel do Nordeste, que é considerado orgânico, pois é produzido através da vegetação nativa, livre de contaminação por agrotóxicos e por resíduos de antibióticos, e uma vez que a região apresenta uma baixa umidade, há uma baixa incidência de doenças nas abelhas, o que dispensa o uso de biocidas (VIDAL, 2018). Esta alta qualidade reflete na melhor remuneração de países que

importam esse produto, como os Estados Unidos, quando comparado aos méis de outros países produtores que estão em melhores posições no ranking (Tabela 3).

Tabela 3 - Ranking de produção mundial de mel nos últimos anos

	Ano				
Colocação	2016	2017	2018	2019	
1º	China	China	China	China	
2°	Turquia	Turquia	Turquia	Turquia	
3°	Canadá	Canadá	Canadá	Canadá	
4°	Estados Unidos	Argentina	Argentina	Argentina	
5°	Rússia	Irã	Irã	Irã	
6°	Argentina	Estados Unidos	Ucrânia	Estados Unidos	
7°	Irã	Índia	Estados Unidos	Ucrânia	
8°	Índia	Ucrânia	Índia	Índia	
9°	Ucrânia	Rússia	Rússia	Rússia	
10°	México	México	México	México	
11°	Etiópia	Etiópia	Etiópia	Etiópia	
12°	Brasil	Brasil	Brasil	Brasil	

Fonte: FAO

Além do Brasil, a produção de mel no mundo é bastante significativa, tendo como principal produtor a China, que exporta um dos mais baratos devido ao baixo custo de produção no país. Em 2017, a China foi responsável por 29,2% de todo mel produzido no mundo. Em segundo lugar, temos a Turquia, porém, mesmo com uma alta produção, o país não apresenta uma participação expressiva no mercado mundial devido a baixa taxa de exportação do produto. E em terceiro lugar nos últimos anos, tem-se o Canadá, seguido pela Argentina nos últimos anos. A Argentina durante anos permaneceu em terceiro lugar, porém nos últimos 4 anos foi superada em quantidade produzida pelo Canadá e em 2016 apresentou uma queda expressiva no ranking. A partir de 2017, a Argentina retomou a produção a níveis competitivos, conseguindo subir novamente no ranking, ocupando a quarta colocação desde então (Tabela 3).

Em termos de produção, o Brasil se manteve em 12º lugar nos últimos 4 anos (2016-2019), apresentando um aumento significativo na produção nos últimos anos, de aproximadamente 16% no volume de produção (Tabela 3).

Apesar de aparecer em segundo lugar no ranking de produção, a Turquia não possui participação expressiva no mercado internacional (Tabela 4). Enquanto o Brasil representa o quinto maior exportador de mel no mundo.

Tabela 4 - Quantidade (em toneladas) de mel exportado no ano de 2019

Colocação	País	Quantidade (t)
1°	China	120.845
2°	Índia	65.351
3°	Argentina	63.522
4°	Ucrânia	54.834
5°	Brasil	30.039
6°	Alemanha	25.239
7°	México	25.122
8°	Espanha	23.064
9°	Hungria	19.389
10°	Bélgica	18.323

Fonte: FAO

# 3.3.3. Aspectos gerais da produção de hidromel

Apesar de ser considerada uma das bebidas alcoólicas mais antigas produzidas pelas civilizações humanas, a produção de hidromel passou por um período de baixíssima produção à medida que outras bebidas, a exemplo do vinho e da cerveja, se tornaram populares. No Brasil, a popularização do hidromel é baixa e poucas pessoas conhecem o produto. Portanto, grande parte de sua produção é realizada por pequenos apicultores como forma complementar a produção de mel. em função disso, a maior parte dessa produção é feita irregular e sem registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e desprovida de tecnologia de produção que possa garantir um produto de qualidade (VENTURINI FILHO et al., 2016). Todavia, nos últimos anos a produção mais intensa de hidromel

tem sido retomada em países do hemisfério norte, principalmente motivada pelas recentes aparições em produções cinematográficas relatando histórias das populações nórdicas, tais como os Vikings, e do período medieval na Europa ocidental e Grâ-Bretanha, que despertam a curiosidade a respeito da bebida e consequentemente aumentam sua procura. Isso indubitavelmente tem também despertado a curiosidade e o interesse dos Brasileiros (BARBOSA; MARTINS, 2017). A primeira hidromelaria do país foi implementada apenas em 2016 no estado de São Paulo. Desde então, a procura pela bebida tem aumentado e outras hidromelarias se instalaram em diversas regiões do país. Segundo o IBGE a produção de outras fermentadas, incluindo o hidromel no país, foi de apenas 5 milhões de litros em 2020 (IBGE), um número que acreditasse estar muito abaixo do real produzido.

# 3.4. PROCESSO DE PRODUÇÃO DE HIDROMEL

# 3.4.1. Matérias-prima

# 3.4.1.1. Características gerais do mel

O mel é uma solução concentrada de açúcares com predominância de glicose e frutose, podendo conter outros em menor quantidade. Contém também uma mistura complexa de compostos como outros hidratos de carbono, enzimas, aminoácidos, ácidos orgânicos, minerais, substâncias aromáticas, pigmentos e grãos de pólen, podendo conter cera de abelha residual do processo de extração (MAPA, 2000). Ao todo, o mel pode conter cerca de 200 compostos diferentes, cujas concentrações e propriedades físico-químicas desse mel podem variar dependendo do tipo de florada, a área geográfica, o clima e as diferentes espécies de abelhas produtoras, além do manuseio e forma de processamento (KÜÇÜK et al., 2007; FINOLA et al., 2007).

Carboidratos são os principais componentes do mel, e seu teor determina diversas propriedades físico-químicas como viscosidade. A relação entre as concentrações desses carboidratos, principalmente glicose e frutose, é um dos principais parâmetros de classificação de méis monoflorais (Proveniente de apenas um tipo de flor) (RODRÍGUEZ et al., 2004; KÜÇÜK et al., 2007; FINOLA et al., 2007). Alguns dissacarídeos também são encontrados no mel, como sacarose, porém esses passam por hidrólise através dos diferentes tipos de enzimas que estão presentes no meio. Além disso, esses carboidratos estão sujeitos a diversas mudanças químicas

durante o processamento e o armazenamento, podendo levar a formação de compostos indesejáveis no mel, como o 5-hidroximetilfurfural (KÜÇÜK *et al.*, 2007).

O HMF geralmente é ausente em méis frescos, porém seu conteúdo tende a aumentar devido ao aquecimento ou quando o mel é estocado por longos períodos, através da ocorrência da reação de Maillard em carboidratos ou desidratação catalítica ácida das hexoses. Essa substância é um dos principais produtos de degradação do mel sendo o aumento de sua concentração influenciada pelo baixo pH, acidez total, minerais, origem botânica, umidade, temperatura e estresse fotoquímico. Juntamente com o teor de HMF, a atividade diastásica também reflete a qualidade do mel, esse parâmetro está diretamente ligado com o tratamento térmico e as condições de armazenamento. Os valores máximos e mínimos desses parâmetros variam de acordo com o país de origem do mel (Tabela 5) (ANKLAM, 1998; MAPA, 2000; RODRÍGUEZ et al., 2004; KÜÇÜK et al., 2007).

Tabela 5 - Parâmetros legislativos brasileiro referente a qualidade dos méis produzidos no país

Parâmetro	Valor
Açúcares redutores	65 g/100g
Umidade	Máximo 20 g/100g
Sacarose aparente	Máximo 6 g/100g
Sólidos insolúveis em água	0,1/100 g
Minerais (Cinzas)	0,6 g/100
Acidez	50 meq/kg
Atividade diastásica	Mínimo 8 na escala Gothe
Hidroximetilfurfural	60 mg/kg

FONTE: MAPA, 2000

Água é o segundo componente mais abundante no mel, que pode variar de acordo com o clima da região, umidade, entre outros fatores. Uma baixa umidade do mel é preferível, uma vez que dificulta contaminação microbiana pela baixa atividade de água do produto, permitindo uma maior estabilidade e maior tempo de estocagem (OLAITAN et al., 2007). Nas classes dos compostos com baixo teor, têm-se os ácidos orgânicos cujo teor é de aproximadamente 0,57%, que além de contribuir para a acidez do mel, também desempenham papel importante para o perfil sensorial do mel.

Entre os ácidos presentes tem-se: ácido pirúvico, ácido málico, ácido cítrico, ácido succínico e ácido fumárico (ANKLAM, 1998). A acidez é um importante parâmetro de controle de qualidade dos méis, tendo sua quantidade regulamentada pela legislação dos países produtores (Tabela 5).

Outras substâncias que compõem o mel são as proteínas, cujo teor é de aproximadamente 0,2% (m/v) (ANKLAM, 1998; IURLINA e FRITZ, 2005). Proveniente das abelhas e das plantas, essas proteínas representam principalmente enzimas do tipo invertase, diastase, glucose oxidade, catalase, α-glucosidase, β-glucosidase e amilase (WON *et al.*, 2008). O teor enzimático do mel pode variar bastante, assim como outros componentes, de acordo com as condições climáticas da região do mel (ANKLAM, 1998). Além de proteínas, o mel possui outros compostos nitrogenados que são basicamente alcaloides, derivados da clorofila, aminoácidos e aminas (AL-MAMARY *et al.*, 2002).

O mel também é rico em compostos voláteis como cetonas, aldeídos, terpenos, ésteres e outros. Esses compostos possuem papel importante no perfil sensorial desses méis e muitos deles são oriundos do néctar das flores que originaram aquele mel (FINOLA et al., 2007; CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2009). Além desses, o mel ainda possui uma variedade de compostos fenólicos, como flavonóides, em teores mais baixos. Os principais flavonoides encontrados pertencem aos grupos das flavononas e flavonas (ANKLAM, 1998). Por fim, o mel possui uma quantidade pequena de minerais, tendo o potássio como mineral mais abundante, porém outros podem também serem encontrados nos méis e de vitaminas C, complexo B e outras (ANKLAM, 1998; OLAITAN et al., 2007).

#### 3.4.1.2. Levedura

As leveduras são fungos unicelulares que apresentam crescimento assexual predominantemente por brotamento ou fissão. Existem centenas de espécies de leveduras, mas a grande maioria delas não é apropriada para a fabricação de bebidas. A espécies utilizadas para a produção de bebidas pertencem ao gênero Saccharomyces, sendo S. cerevisiae a principal levedura fermentadora responsável pela produção das bebidas fermentadas/destiladas mais consumidas. Essas

leveduras utilizam o mosto durante a fermentação para consumir açúcares fermentescíveis e produzir etanol, dióxido de carbono e substâncias organolépticas que compõem o painel sensorial dessas bebidas (KURTZMAN et al., 2011; WHITE; ZAINASHEFF, 2010). A escolha da linhagem de levedura utilizada para o processamento tem influência no produto. O metabolismo desses micro-organismos é responsável pela produção de uma miríade de compostos que integram o buquê da bebida, seja produzindo substâncias desejáveis, os flavors, ou indesejáveis, os offflavors (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000). Portanto, torna-se indispensável a escolha adequada do micro-organismo para a produção. No geral, as leveduras para o hidromel são aquelas utilizadas para a produção de vinho, que apresentam características importantes como: alta tolerância ao etanol e variações de temperatura, alta capacidade fermentativa e de sedimentação, produção de substâncias organolépticas de interesse e entre outras (PEREIRA et al., 2009; PRETORIUS, 2000).

# 3.4.1.3. Outras matérias-primas

Além do mel, outras matérias-primas são necessárias para a produção de hidromel. Apesar de tradicionalmente o hidromel ser produzido utilizando apenas uma solução de mel de abelha, atualmente outras matérias-primas estão sendo adicionadas ao mel, como ervas, frutas, entre outros. Com isso, o hidromel passou a possuir algumas classificações de acordo com esses substratos: i) *metheglin* (hidromel com adição de especiarias ou ervas); ii) melomel (hidromel com adição de frutas); iii) *hippocras* (hidromel pigmentado com especiarias ou ervas) e iv) *sack* hidromel (hidromel produzido com altas concentrações de mel) (GUPTA; SHARMA, 2009).

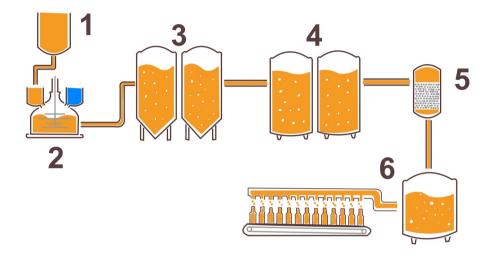
## 3.4.2. Etapas do processo

## 3.4.2.1 Fluxograma de processo

O processo produtivo de hidromel é relativamente simples quando comparado a outras bebidas, sendo constituído basicamente pela seleção dos insumos,

preparação do mosto, fermentação, trasfega, maturação, acabamento, envase e comercialização (Figura 1).

Figura 1 – Fluxograma de produção de hidromel: (1) Armazenamento do mel; (2) Preparação do mosto; (3) Fermentação; (4) Maturação; (5) Acabamento da bebida e (6) Envase.



O início do processo se dá através da escolha adequada dos insumos (1) e posteriormente a preparação do mosto de mel que será fermentado, que consiste na diluição do mel em água potável até atingir a concentração de interesse (2). Após a preparação do mosto, ele é levado para os tanques de fermentação onde permanecerá até a atenuação completa ou parcial dos carboidratos, dependendo do tipo de hidromel, seco ou suave (3). Após a fermentação, há o processo de separação das células de levedura do mosto fermentado, processo denominado descuba ou trasfega. Em seguida, a bebida pode ou não passar pelo processo de maturação (4). Terminado o período de maturação, ocorrem os processos de acabamento da bebida, geralmente clarificação e pasteurização (5). Por fim, o hidromel é envasado nas garrafas e levado para comercialização (6).

## 3.4.2.2. Etapas pré-fermentação

O primeiro passo para produção é a escolha das matérias-primas e do tipo de hidromel que será produzido: tradicional, melomel, entre outros. Devido a falta de padronização na matéria-prima, com aspectos sensoriais que podem alterar bastante o hidromel ao fim do processo, essa etapa se torna crucial para a qualidade do

produto. Em seguida, a preparação do mosto é realizada diluindo o mel com água potável até o BRIX inicial desejado para fermentação. Essa escolha irá influenciar diretamente no teor alcoólico e nos aspectos sensoriais do produto (MATTIETTO et al., 2006; GUPTA; SHARMA, 2009) Apesar de ter uma preparação de mosto relativamente simples quando comparada a outras bebidas e não necessitar de processos complexos para liberação dos carboidratos, diferentes de muitas matrizes, o mel não fornece nutrientes essenciais em proporções adequadas para o funcionamento adequado do metabolismo das leveduras como, por exemplo, fontes de nitrogênio e sais minerais. Sendo assim, a suplementação do mosto é recorrente em diversos países onde há a produção da bebida (GUPTA; SHARMA, 2009).

# 3.4.2.3. Fermentação

Depois de preparado, o mosto é transferido para os tanques de fermentação, onde os carboidratos são metabolizados pela levedura para produção de etanol, gás carbônico e outros compostos importantes para o corpo sensorial da levedura, além da multiplicação celular (WHEALS *et al.*, 1999; ESPINOSA VIDAL, 2012; NELSON; COX, 2014). Para que haja a formação desses compostos sensoriais são necessárias fontes de nitrogênio, principalmente na forma de aminoácidos (COOPER, 1982). As leveduras utilizam parte do carbono e os aminoácidos disponíveis no meio para a produção desses compostos, que em sua maioria são álcoois superiores e ésteres e em menor quantidade alguns ácidos orgânicos e outros compostos carbonílicos, que juntos determinam as características sensoriais da bebida (HAZELWOOD *et al.*, 2008; VERSTREPEN *et al.*, 2003; BOULTON; QUAIN, 2001). Após a fermentação, há o processo de separação das células de levedura do mosto fermentado, processo denominado descuba ou trasfega.

## 3.4.2.4. Etapas pós-fermentação

Em seguida, a bebida pode ou não passar pelo processo de maturação, considerado importante para a estabilização do produto e geralmente, ocorre em temperaturas mais baixas às de fermentação (VENTURINI FILHO *et al.*, 2016; MORADO, 2017). Terminado o período de maturação, ocorrem os processos de acabamento da bebida, geralmente clarificação e pasteurização. A clarificação

consiste na retirada de sólidos suspensos que comprometem os aspectos visuais e sensoriais, para isso utilizando basicamente métodos físicos, como filtração, ou químicos como adição coagulantes que irão ajudar na sedimentação dessas partículas. Por fim, a bebida passa por um processo de pasteurização para prolongar a vida útil e segue para o envase e comercialização (PEREIRA *et al.*, 2009; MORADO, 2017).

# 3.4.2.5. Principais entraves da produção

Apesar de ser uma bebida com um processo relativamente simples, e que pode ser realizada já utilizando a estrutura das microcervejarias, a produção de hidromel enfrenta alguns problemas, que vão desde a matéria-prima até a pósprodução. O mel, principal matéria-prima, pode ter uma variedade muito grande das suas características físico-químicas e sensoriais, a depender da região, origem botânica, espécie de abelha e até mesmo a forma de manejo das colmeias. Devido a essa variação, torna-se muito difícil padronizar a matriz de entrada no processo, o que ocasionaria diferenças entre os hidroméis de cada lote de produção.

Além da falta de padronização, a ausência de compostos importantes para o metabolismo celular também se torna um problema. A escassez desses nutrientes, principalmente compostos nitrogenados, torna o mosto de mel um ambiente estressor para a levedura, o que ocasiona fermentações incompletas ou muito lentas, que podem levar semanas ou até meses para serem completadas. Esses períodos, além de onerar o processo produtivo, torna a produção muito mais suscetível a contaminações bacterianas (SROKA; TUSZYNSKI, 2007; PEREIRA et al., 2009). Além de ocasionar fermentações muito longas, a falta desses nutrientes também pode impactar significativamente o perfil organoléptico da bebida, uma vez que para a produção de bebidas fermentadas e fermento-destiladas, além dos metabólitos principais a serem produzidos, os metabólitos secundários são essenciais para a construção do corpo sensorial dessa bebida. Com isso, a disponibilidade não apenas de carboidratos, mas também de compostos nitrogenados se mostram essenciais para as leveduras desempenharem um bom rendimento fermentativo (VERSTREPEN et al., 2003; VILA NOVA et al., 2009).

Associada a essas características, a produção de hidromel também não possui uma linhagem de levedura adequada às condições do mosto de mel, o que torna o

processo ainda mais demorado. Atualmente, são utilizadas majoritariamente linhagens empregadas na produção de vinho, que muitas vezes não são adequadas, uma vez que o sumo da uva e o mel possuem características muito distintas, principalmente na concentração de compostos nitrogenados, onde o mosto de uva possui cerca de cem vezes mais nitrogênio que o mel (PEREIRA *et al.*, 2009)

Uma alternativa estudada para fermentação de soluções de mel é a utilização de leveduras com baixa exigência nutricional, mais precisamente as que necessitam de pouco nitrogênio, o que poderia ser benéfico uma vez que o mel possui baixos teores de fontes de nitrogênio (SCHWARZ et al., 2020). Todavia, os aspectos sensoriais podem ser prejudicados, uma vez que a síntese de compostos organolépticos é diretamente afetada pela relação carbono/nitrogênio e pela linhagem de levedura empregada, além de outros fatores (PALMER; RENNIE, 1974; PISARNITSKII, 2001; CARRAU et al., 2008).

# 3.5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As informações apresentadas nesta seção mostram que o Brasil tem um grande potencial para a produção de mel, destacando-se a região do semiárido do Nordeste com o apelo de um produto mais orgânico. Isso mostra que o potencial para a produção de hidromel é proporcionalmente alto, o que certamente agregaria valor ao setor apícola. A partir disso, o presente trabalho focalizou dois dos principais entraves para a produção dessa bebida: a qualidade da matéria-prima e a seleção de uma linhagem mais adequada de levedura, fundamentais para a qualidade da bebida. A seguir serão relatados os dois produtos experimentais deste trabalho. No primeiro capítulo (artigo 1), serão apresentadas as propriedades físico-químicas dos méis provenientes do sertão do Pajeú do estado de Pernambuco, e no segundo capítulo (artigo 1) será mostrado um estudo comparativo entre linhagens usadas comercialmente para a produção de cerveja, vinho, cachaça e etanol combustível na fermentação do mel e produção do hidromel. As implicações gerais do trabalho serão apresentadas na discussão, com as perspectivas de aplicação dos conhecimentos gerados.

# 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dessa dissertação estão apresentados na forma de artigos.

#### **4.1 ARTIGO 1**

Análise físico-química do mel de abelha (*Apis mellifera*) do Agreste e Sertão Pernambucano e o seu potencial para promoção de produtos com alto valor agregado

Rayssa Karla Silva<sup>1,2</sup>, Walter de Paula Pinto Neto<sup>1,2</sup>, Brener de Santana Lima<sup>2</sup>, Gabriel Felipe de Souza Acioli<sup>2</sup>, Romero Marcos Pedrosa Brandão Costa<sup>3</sup>, Fábio Sérgio Barbosa da Silva<sup>3</sup>, Carmelo José Albanez Bastos Filho<sup>4</sup>, Hélio Fernandes de Melo<sup>5</sup>, Rafael Barros de Souza<sup>2</sup>, Marcos Antônio de Morais Júnior<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Genética de Microrganismos, Departamento de Genética, Centro de Biociências. Universidade Federal de Pernambuco.

<sup>2</sup>Laboratório de Metabolismo Microbiano, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco.

#### Resumo

Mel é uma substância natural produzida por abelhas através do processamento do néctar das plantas e possui uma composição complexa que está associada à sua origem botânica, área geográfica de produção e a espécie de abelha. Poucos estudos avaliaram até o momento as características dos méis do Brasil, principalmente do Nordeste brasileiro, região que possui uma grande biodiversidade de plantas fornecedoras de néctar para as abelhas. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os principais parâmetros físico-químicos dos méis do Sertão e

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco,

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Escola Politécnica de Pernambuco. Universidade de Pernambuco.

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup> Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Agreste de Pernambuco, com o intuito de avaliar seu potencial para a produção de derivados de alto valor agregado. Foi observado que os méis possuem alto valor nutricional, com um teor de proteínas e antioxidantes elevado, o que pode contribuir significativamente para a produção de derivados. Como já esperado, muitos desses parâmetros estão correlacionados entre si e apesar da média geral estar dentro dos parâmetros estabelecidos na legislação, os méis analisados apresentaram alto teor nutricional e de sacarose, com maior acidez e teor de compostos fenólicos. Isso parece ser específico da região do semiárido do Nordeste. Portanto, é provável que os atuais critérios de regulamentação do mel não sejam adequados às características intrínsecas do mel da região. Portanto, o presente trabalho deve contribuir não apenas para a proposição de produtos derivados com maior valor agregado como também para a atualização da legislação vigente.

Palavras-chave: atividade diastásica; fenólicos; furfural; teor proteico

# Introdução

O mel de abelha é um produto naturalmente doce produzido por abelhas melíferas através da coleta de néctar da vegetação da região, que apresenta cerca de duzentos tipos diferentes de moléculas em sua composição. É composto majoritariamente por carboidratos, com predomínio de glicose, frutose e sacarose. Também apresenta enzimas, aminoácidos, ácidos orgânicos, minerais, substâncias aromáticas, pigmentos, grão de pólen e possivelmente resquícios de cera de abelha, provenientes do processo de extração (MAPA, 2000). Essa composição pode variar de acordo com a origem botânica, região e a espécie de abelha coletora. Outros fatores como colheita, armazenamento, clima, entre outros, também possuem efeitos sob sua composição e características físico-químicas (ANKLAM, 1998; KÜÇÜK et al., 2007). Estima-se que no mel contém mais de 180 substâncias conhecidas e que estão associadas a diversos benefícios, como propriedades antioxidantes, antimicrobianas, entre outras. O mel vem sendo usado como alimento desde a antiguidade, e muitos dos seus efeitos ainda não estão completamente elucidados (AL-WAILI et al. 2002).

Apesar dos possíveis benefícios, em alguns países o mel tem um consumo relativamente baixo, como é o caso do Brasil, o que faz com que a principal forma de

escoamento seja através da exportação (VIDAL, 2019). O mel brasileiro é considerado um mel de qualidade, e geralmente possui valores maiores no mercado internacional quando comparado a méis de outros países (VIDAL, 2018). No país, que possui uma biodiversidade rica com inúmeras espécies de vegetação que podem ser visitadas pelas abelhas, o mel pode possuir aspectos sensoriais muito diferentes, mesmo em regiões geograficamente próximas. Em destaque, têm-se os méis produzidos no Nordeste, mais precisamente no Sertão, onde predomina o bioma Caatinga, área que abriga uma imensa diversidade biológica e produz um mel de qualidade e atrativo para a exportação. No Nordeste o mel é produzido a partir da vegetação nativa, ou seja, sem necessidade de pastos apícolas para a produção. Desta forma, esse mel é considerado de alta qualidade, livre de contaminação por agrotóxicos e por resíduos de medicamentos como antibióticos. Além disso, a baixa umidade da região diminui a incidência de doenças nas abelhas, o que dispensa o uso de biocidas (VIDAL, 2018). Devido às diferentes floradas que fornecem néctar, o mel apresenta características únicas, com diversos bioativos interessantes.

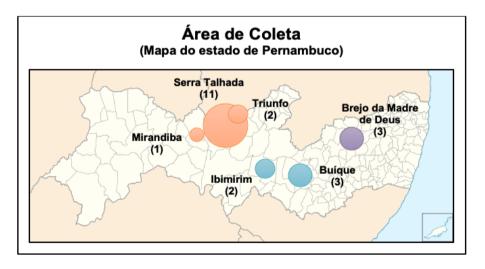
Por ser uma mistura complexa, o mel é um alimento que pode apresentar diferentes características que contribuem para sua qualidade. A atividade biológica do mel e de produtos oriundo da apicultura vem predominantemente da presença de compostos fenólicos presente no néctar das plantas visitadas, o que confere aos méis uma alta atividade antioxidante que vai estar diretamente correlacionada a florada de origem. Além disso, a geografia e o clima são fatores determinantes para a flora e, consequentemente, para as características dos méis. (SALATINO; SALATINO; NEGRI, 2021). No Brasil, sua comercialização *in natura* é regulamentada por lei, porém, a legislação vigente é antiga e importada de outros países, e passou por poucas revisões desde então. Isso tem produzido certa acomodação e pouco estudos a cerca da real adequação dessa lei as características dos méis brasileiros são realizadas (KÜÇÜK *et al.*, 2007; FINOLA *et al.*, 2007; MAPA 2000). Portanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os parâmetros físico-químicos dos méis do Sertão e Agreste de Pernambuco para analisar a correlação entre eles, com o intuito de utilizar o mel como matriz para a produção de derivados.

# Materiais e Métodos

Área da coleta e amostras

Vinte e duas amostras de mel *in natura* de colmeias de abelhas africanizadas (*Apis melifera*) foram coletadas por apicultores diferentes localidades do Estado de Pernambuco e foram fornecidas para análise (Figura 1): municípios de Buíque (8° 37′ 24″ S, 37° 9′ 23″ W) e Ibimirim (8° 32′ 26″ S, 37° 41′ 25″ W), localizados na microrregião do Sertão do Moxotó (Rio Moxotó) e em Mirandiba (8° 7′ 17.59″ S, 38° 43′ 42.44″ W), Triunfo (7° 50′ 16″ S, 38° 6′ 7″ W) e Serra Talhada (7° 59′ 9″ S, 38° 17′ 45″ W), localizados na microrregião do Sertão do Pajeú (Rio Pajeú), ambas as áreas pertencentes a mesorregião do Sertão de Pernambuco e totalmente área de Caatinga. Além desses, amostras foram coletadas no município de Brejo da Madre de Deus (8° 8′ 45″ S, 36° 22′ 15″ W), localizado na microrregião do Vale do Ipojuca, pertencente a mesorregião do agreste de Pernambuco, Região Nordeste, Brasil. Como grupo externo, foi utilizada uma amostra comercial proveniente do município de Turvolândia (21° 52′ 33″ S, 45° 47′ 13″ W), Minas Gerais, Região Sudeste, Brasil.

Figura 1 - Mapa do estado de Pernambuco evidenciando o número de amostras por área de coleta. Microrregião do Sertão do Moxotó (verde). Microrregião do Sertão do Pajeú (Azul). Microrregião do Vale do Ipojuca (Iaranja).



Essas amostras foram coletadas no período de junho de 2021 a março de 2022 e para a maioria dessas amostras não foi possível se determinar a florada predominante, sendo consideradas floradas mistas (Tabela 1). Para algumas amostras foi possível determinar a origem predominante, mas não exclusiva, do nectar como proveniente de espinheiro (*Acacia glomerosa*), angico (*Anadenanthera colubrina*), aroeira (*Schinus terebinthifolius*), capa bode (*Bauhinia molis*), marmeleiro

(Croton sonderianus), quixabeira (Sideroxylon obtusifolium) e umbuzeiro (Spondias tuberosa) (Tabela 1).

Tabela 1 – Catalogação das amostras de mel coletadas.

Código	Florada predominante	Município de coleta	Data da coleta					
	Mesorregião do	Sertão de Pernambuco						
	Microrregião	do Sertão do Moxotó						
HS20	Mista	Buíque	Março/2022					
HS21	Mista	Buíque	Março/2022					
HS22	Mista	Buíque	Março/2022					
HS15	Mista	Ibimirim	Fevereiro/2022					
HS16	Mista	Ibimirim	Fevereiro/2022					
	Microrregiã	o do Sertão do Pajeú						
HS3	Mista	Mirandiba	Junho/2021					
HS1	Espinheiro	Serra Talhada	Junho/2021					
HS2	Angico	Serra Talhada	Junho/2021					
HS4	Mista	Serra Talhada	Junho/2021					
HS5	Mista	Serra Talhada	Junho/2021					
HS6	Aroeira	Serra Talhada	Junho/2021					
HS7	Mista	Triunfo	Julho/2021					
HS8	Mista	Triunfo	Julho/2021					
HS9	Capa Bode	Serra Talhada	Agosto/2021					
	Marmeleiro							
HS10	Quixabeira	Serra Talhada	Novembro/2021					
HS11	Aroeira	Serra Talhada	Novembro/2021					
	Umbuzeiro							
	Angico							
HS12	Marmeleiro	Serra Talhada	Outubro/2021					
HS13	Mista	Serra Talhada	Janeiro/2022					
HS14	Mista	Serra Talhada	Janeiro/2022					
	Mesorregião do	Agreste de Pernambuco						
Microrregião do Vale do Ipojuca								
H17	Mista	Brejo da Madre de Deus	Março/2022					
H18	Mista	Brejo da Madre de Deus	Março/2022					
H19	Mista	Brejo da Madre de Deus	Março/2022					
	Grupo ext	erno (Minas Gerais)						
HS23	Mista	Turvolândia	-					

Fonte: Dados dos autores.

38

Determinação da massa específica e BRIX

O BRIX dos méis foi determinado através da medição utilizando um

refratômetro portátil. A massa específica foi determinada utilizando um picnômetro de

vidro de 5 mL, previamente calibrado com água destilada. A massa específica foi

determinada pela seguinte fórmula:

Massa específica =  $(M_c - M_v)/V_R$ 

Onde:

M<sub>c</sub> = Massa do picnômetro cheio

M<sub>v</sub> = Massa do picnômetro vazio

V<sub>R</sub> = Volume real do picnómetro

Determinação da umidade por secagem

A determinação da umidade, cinzas, pH, acidez, teor de HMF e atividade

diastásica foram realizadas segundo metodologias estabelecidas e validadas pelo

Instituto Adolfo Lutz (2008). Para umidade, 5 g da amostra de mel foi pesada em uma

cápsula de porcelana previamente tarada, dessecada até remoção da umidade

existente e resfriada em dessecador até temperatura ambiente. Após isso, a cápsula

contendo a amostra foi acondicionada em estufa a 105 °C até peso constante,

seguindo o mesmo método de resfriamento em dessecador antes da pesagem. O

resultado foi expresso em porcentagem (m/m) de acordo com a fórmula:

 $100 \times N/P = umidade$ 

Onde:

N = nº de gramas de umidade (perda de massa em g)

P = nº de gramas da amostra

Determinação de resíduo por incineração (cinzas)

Para analisar cinzas, 5 g da amostra de mel foi pesada em uma cápsula de

porcelana previamente tarada, aquecida em mufla por 15 minutos para a remoção da

umidade existente e resfriada em dessecador até temperatura ambiente. Após isso, a

cápsula contendo a amostra foi acondicionada em mufla a 550 °C até peso constante,

seguindo o mesmo método de resfriamento em dessecador antes da pesagem. O

resultado foi expresso em porcentagem (m/m) de acordo com a fórmula:

39

 $100 \times N/P = umidade$ 

Onde:

N = nº de gramas de cinzas

P = nº de gramas da amostra

## Determinação de condutividade, pH e acidez livre

Para condutividade e pH, foi preparada uma solução de mel, utilizando 10g de amostra e 75 mL de água e foram utilizados os equipamentos pHmetro (MODELO) e condutivímetro (MODELO) para análise. Para acidez livre, essa mesma solução, após análise de pH e condutividade, foi titulada uma solução de hidróxido de sódio 0,05 N até atingir o pH 8,5, e a acidez livre foi determinada de acordo com a seguinte fórmula:

Acidez (meq/kg) = 
$$[(V-V_b) \times 50 \times f]/P$$

Onde:

V = volume de hidróxido de sódio gasto na titulação da amostra

V<sub>b</sub> = volume gasto na titulação do branco

f = fator da solução de hidróxido de sódio

P = massa da amostra em gramas

#### Determinação de carboidratos totais e frações

Para analisar o teor de carboidratos presentes nas amostras foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta performance (HPLC, Waters Co., USA) utilizando uma coluna Aminex HPX-87H (BioRad, USA) a uma temperatura de 35°C, cuja fase móvel foi uma solução de Ácido sulfúrico a 5mM com fluxo de 0,6 Lmin<sup>-1</sup>. Para isso foi pesado 2,5 g de cada amostra de mel e diluída para 100 mL de água ultrapura e filtradas em filtro 0,22 μm. Em seguidas as amostras foram analisas no HPLC. Todas as análises foram feitas em triplicata.

## Determinação do teor de proteínas totais

O teor total de proteínas foi determinado pelo método do ácido bicinconínico (BCA) descrito por Smith et al. Para isso, 25 µL de cada amostra foi adicionado em 200 µL de uma solução de BCA em uma microplaca de 96 poços. A placa foi homogeinizada por 30 segundos e em seguida incubada à 30°C por 30 minutos. A

absorbância foi medida em um leitor de placas com comprimento de onda de 562 nm. A curva de calibração foi feita utilizando albumina bovina como padrão. A albumina foi utilizada controle de acordo com o procedimento (Pierce, Rockford, IL, USA)

## Determinação do teor de hidrometilfurfural

Foi pesado 5g de mel e diluído com 25 mL de água destilada em um béquer e em seguida foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL, onde foi adicionado 0,5 mL de solução de Carrez I e 0,5 de solução de Carrez II e o volume foi aferido para 50 mL. A solução de mel foi filtrada, descartando os primeiros 10 mL de filtrado, em seguida foi adicionado 5 mL do filtrado em dois tubos de ensaio. Em um dos tubos foi adicionado 5 mL de água e no outro 5 mL de bissulfito de sódio 0,2% (referência). Os dois tubos foram misturados em banho de ultra-som por 3 minutos e a absorbância foi determinada em dois comprimentos de onda: 284 e 336 em cubeta de quartzo de 1 cm. O Teor de HMF foi determinado utilizando a seguinte fórmula:

HMF (mg/kg) = 
$$[(A_{284} - A_{336})x149,7x5]/P$$

Onde:

A<sub>284</sub> = Absorbância da amostra no comprimento de onda de 284 nm;

A<sub>336</sub> = Absorbância da amostra no comprimento de onda de 336 nm;

P = Massa da amostra em gramas

#### Determinação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante total foi avaliada por meio de três métodos diferentes: pela avaliação do potencial de redução do radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), do complexo fosfomolibdênio e do FRAP (Poder antioxidante redutor férrico).

## Avaliação do potencial de redução do radical DPPH

Para a avaliação do potencial de redução do complexo DPPH foram adicionados em frasco âmbar (30 mL) 0,1 mL do mel de abelha e 3,9 mL do radical de DPPH (0,06 mM) (Sigma-Aldrich®, Missouri, Estados Unidos). A solução foi agitada em vórtex e colocada em repouso ao abrigo da luz por 30 minutos. Posteriormente, foi realizada leitura em espectrofotômetro (515 nm). Os resultados foram expressos em mg de DPPH restantes na solução (Rufino *et al.*, 2007).

41

Avaliação do potencial de redução do complexo fosfomolibdênio

A atividade antioxidante total também foi determinada em termos de ácido

ascórbico (em mg/mL) (Pietro et al., 1999; Kumari et al. 2013). Para a avaliação do

potencial de redução do complexo fosfomolibdênio, 2 mL das amostras de méis de

abelhas foram diluídas em água destilada para um volume final de 10 mL. Foram

adicionados 2 mL de solução de trabalho (588 µL de ácido sulfúrico, 0,049 g de

molibdato de amônio, 0,036 g de fosfato de sódio e água destilada até completar o

volume de 10 mL). Após incubação a 95°C por 90 minutos, a densidade óptica foi

medida a 695nm e o ácido ascórbico (0,25 mg/mL) foi utilizado como padrão. A

capacidade antioxidante total foi calculada pela fórmula,

Capacidade antioxidante total (%) = [(As-Ac)/(Aaa - Ac)] X 100

Onde:

Ac = absorbância do controle:

As = absorbância da amostra;

Aaa = absorbância do ácido ascórbico.

Avaliação do potencial de redução do FRAP

A avaliação do potencial de redução do Ferro foi realizada com o radical TPTZ

(Sigma-Aldrich®, Missouri, Estados Unidos). Foram adicionados, em frasco âmbar, 90

μL das amostras de mel diluídas 5 vezes em água destilada, 270 μL de água destilada

e 2,7 mL do reagente FRAP. Após a homogeneização, o material foi mantido em

repouso por 30 minutos em banho-maria (37 °C). Posteriormente, foi realizada a leitura

em 595 nm. Os dados obtidos foram plotados na fórmula,

 $Z = (d/1.000 \times 1)/1.000$ 

Onde:

Z = atividade antioxidante expressa em  $\mu$ M sulfato ferroso g<sup>-1</sup>;

d = diluição da amostra (mg L<sup>-1</sup>), equivalente a 1.000 μM de sulfato ferroso.

## Determinação dos flavonoides totais

O conteúdo total de flavonoides foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Silva *et al.* (2005) e Araújo *et al.* (2005) (modificado). Foram misturados 100 µL das amostras dos méis de abelhas, 60 µL de ácido acético glacial, 1 mL de uma solução de piridina-metanol (2:8), 250 µL de uma solução de cloreto de alumínio a 5% em metanol e completou-se com 1,10 mL de água destilada. A solução foi deixada em repouso por 30 minutos à temperatura ambiente e sua absorbância a 420 nm foi medida posteriormente. Uma curva de calibração foi preparada usando uma amostra de 2 mg de rutina dissolvida em 100 mL de metanol e diluída nas seguintes concentrações: 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 e 0,5 µg/mL.

## Determinação dos fenóis totais

Para a determinação de fenóis totais foi aplicado o método de Folin-Ciocalteau. As amostras de mel (200 μL do mel diluído 5 vezes em água destilada), o reagente Folin–Ciocalteau (1 mL.L<sup>-1</sup>, v/v) (Merck®, Darmstad, Hesse, Alemanha) e 800 μL de carbonato de sódio (75 mg.L<sup>-1</sup>, p/v) (Vetec ®, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil) foram adicionados em frascos de vidro e a solução foi agitada em vórtex (Biomixer Ltda., VTX-2500, Morumbi, São Paulo, Brasil). Após 30 minutos a leitura foi realizada a 765 nm. O ácido tânico foi utilizado como curva padrão (Vetec, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil) (ORUJEI *et al.*, 2013).

#### Determinação dos flavonóis totais

Para a determinação dos favonóis totais foram misturadas 0,5 mL das amostras de mel diluídas 5 vezes em água destilada, 1,5 mL de solução de etanol a 95 %, 0,1 mL de solução de cloreto de alumínio 10%, 0,1 mL de solução de acetato de potássio 1 M e 2,8 mL de água destilada. A solução foi agitada em vórtex e colocada em repouso por 30 minutos. Após isso, a leitura em espectrofotômetro foi realizada em 415 nm. Uma solução de quercetina (100 mg.L<sup>-1</sup>) diluída em etanol 80 % foi utilizada como curva padrão e diluída nas seguintes concentrações: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 mg.L<sup>-1</sup> (WOIKY; SALATINO, 1998; BENCHERIF *et al.*, 2019).

## Determinação de atividade diastásica

Para isso, 10 g da amostra de mel foi dissolvida em 15 mL de água destilada em um Bécker. Adicionou-se 5 mL da solução tampão de acetato (1,59 M e pH 5,3) e o volume foi ajustado para 50 mL com água destilada em um balão volumétrico já contendo 3 mL de solução de cloreto de sódio (0,5 M). Foi pipetado 5 mL de solução de amido (20 g.L-1) em um tubo de ensaio contendo 10 mL da solução de mel tamponada e colocado em banho-maria a 40 ± 1 °C por 15 minutos com agitações periódicas. Em intervalos de 5 minutos foram retiradas alíquotas de 1 mL dessa solução e adicionadas rapidamente em 10 mL de solução de iodo diluída (0,00035 M) em uma proveta de 50 mL. Foi realizada a mistura e diluição em água destilada conforme descrito na padronização do amido e a absorbância foi determinada a 660 nm para alíquotas retiradas a cada 5 minutos até a obtenção de absorbância menor que 0,235. Um gráfico de absorbância versus tempo em minutos foi registrado e o cálculo expresso em unidades de Gothe ou Schade por grama de mel foi realizado pela fórmula:

300/t<sub>x</sub> = atividade diastásica

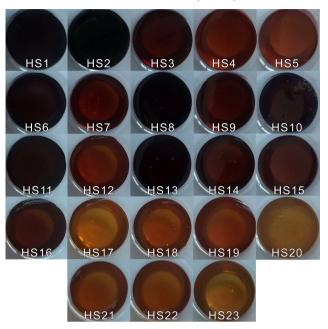
Onde:

t<sub>x</sub> = tempo de reação em minutos

## Resultados

Dentre as amostras coletadas, mais de 50% foram caracterizadas como amostras de florada mista, devido a predominância de diversas espécies de vegetação naquela região no período de coleta e ausência de um pasto apícola. Essas características fazem com que mesmo méis de regiões geográficas próximas possuam propriedades muito diferentes entre si, como as amostras do Sertão do Pajeú. Os principais parâmetros sensoriais dos méis como coloração muito diferente entre as amostras. No geral, as amostras do Pajeú (HS1 até HS14) apresentaram coloração mais escura do que as do Sertão do Moxotó e as amostras do Agreste (Figura 2)

Figura 2 – Coloração dos méis de abelha coletados no Sertão do Pajeú (HS1 até HS14), Agreste (HS17 até HS19) e Sertão do Moxotó (HS15, HS16, HS20 até HS22) do Estado de Pernambuco e amostra comercial (HS23).



## Determinação das propriedades físico-químicas

As análises dos parâmetros físico-químicos dos méis foram realizadas de acordo com as diretrizes estabelecidas na Instrução Normativa Nº 11, de 20 de outubro de 2000 no Ministério da Agricultura e Abastecimento, que estabelece os parâmetros de identidade e qualidade do mel (MAPA, 2000). Os méis colhidos no Sertão e Agreste de Pernambuco apresentaram massa específica média de 1,420 g/cm³ com pouca variação entre as amostras. No geral os méis apresentaram características mais ácidas, com a média próxima ao valor máximo permitido pela legislação que é de 50 meq/kg (Tabela 2). As amostras provenientes do Sertão do Pajeú se mostraram mais ácidas, com 50% delas apresentando acidez acima do limite máximo permitido pela legislação A amostra responsável pela maior acidez foi a HS2, do Sertão do Pajeú, que apresentou uma acidez de 73,5 meq/kg (Tabela 2). O valor máximo de teor de cinzas foi de 0,785% na amostra HS2 de cinzas, com média de 0,265% que é abaixo do máximo permitido pela legislação Brasileira (Tabela 2).

Tabela 2 – Parâmetros físico-químicos analisados nas amostras de méis do Sertão do Pajeú (HS1 até HS14), Agreste (HS17 até HS19) e Sertão do Moxotó (HS15, HS16, HS20 até HS22) do Estado de Pernambuco e amostra comercial (HS23).

Amostra	Microrregião	Massa específica (g/mL)	рН	Acidez livre (meq/kg)	Cinza s (%)	Condutividad e (μS/cm)	BRIX (%)	Umidade (%)
HS1		1,431	3,72	67,0	0,122	193,1	85	13%
HS2		1,433	4,74	73,5	0,785	842,0	84	12%
HS3		1,410	4,32	42,0	0,381	438,0	80	16%
HS4		1,410	3,78	50,5	0,111	188,3	81	14%
HS5		1,420	3,74	38,0	0,121	186,0	84	13%
HS6		1,414	4,03	52,0	0,178	280,0	80	14%
HS7	Sertão do	1,420	4,17	37,5	0,161	228,0	79	12%
HS8	Pajeú	1,426	4,39	44,0	0,265	331,0	82	13%
HS9		1,426	3,87	58,5	0,186	299,0	85	12%
HS10		1,431	4,12	44,5	0,278	447,0	80	13%
HS11		1,434	4,05	62,0	0,212	329,0	85	12%
HS12		1,425	3,96	58,0	0,144	245,0	86	12%
HS13		1,429	4,28	53,5	0,585	681,0	82	13%
HS14		1,435	4,34	32,0	0,529	711,0	83	10%
HS15	Sertão do	1,429	4,23	33,0	0,368	648,0	83	11%
HS16	Moxotó	1,432	4,23	32,0	0,396	695,0	82	11%
HS17		1,426	3,65	32,0	0,313	223,0	72	14%
HS18	Agreste	1,420	3,58	38,5	0,100	225,0	85	15%
HS19	-	1,418	3,94	38,0	0,120	261,0	83	15%
HS20	Sertão do	1,391	3,87	27,5	0,125	207,0	78	18%
HS21	Moxotó	1,414	3,71	47,5	0,197	278,0	82	15%
HS22		1,397	3,75	38,0	0,339	310,0	80	16%
HS23	Amostra externa	1,393	4,33	10,5	0,083	124,3	75	19%
	Média	1,420	4,04	43,9	0,265	363,9	82	14%

## Determinação de carboidratos totais e frações

Os carboidratos são os componentes mais abundantes no mel de abelha e seu teor é um importante indício de controle de qualidade de adulteração dos méis. A frutose, na maioria dos méis, é o carboidrato em maior concentração, seguida da glicose e ambas correspondem a aproximadamente 85-95% dos carboidratos do mel. Alguns dissacarídeos e trissacarídeos também podem ser encontrados em menores concentrações, além de concentrações ínfimas de polissacarídeos. A relação entre a frutose e glicose é um dos principais parâmetros de classificação dos méis monoflorais e pode influenciar diretamente perfil sensorial como é o caso da granulação (RODRÍGUEZ et al., 2007; FINOLA; LASAGNO, MARIOLI, 2007). Dentre os

dissacarídeos, o de maior abundância é a sacarose, cujo teor é regulamentado pela legislação, sendo o máximo permitido de 6g/100g de mel, teores maiores de sacarose podem indicar colheita precoce ou adulteração (MAPA, 200). No geral os méis apresentaram valores próximos de carboidratos totais, com média de 80,91. Foi observado que o teor médio de sacarose foi próximo de 10%, superior ao teor preconizado pela legislação (Tabela 3).

Tabela 3 – Teor de carboidratos totais e frações presentes nos méis do Sertão do Pajeú (HS1 até HS14), Agreste (HS17 até HS19) e Sertão do Moxotó (HS15, HS16, HS20 até HS22) do Estado de Pernambuco e amostra comercial (HS23).

		Concentração (g/ 100g de mel)							
Amostra	Microrregião	Sacarose	Glicose	Frutose	Carboidratos totais				
HS1		$9,00 \pm 0,13$	32,90 ± 0,16	38,60 ± 0,18	80,50 ± 0,08				
HS2		12,83 ± 0,15	$25,44 \pm 0,26$	$38,50 \pm 0,44$	$76,77 \pm 0,36$				
HS3		10,96 ± 1,53	$28,83 \pm 0,58$	$38,41 \pm 0,34$	$78,19 \pm 2,15$				
HS4		$4,51 \pm 0,10$	$36,51 \pm 0,81$	$39,95 \pm 0,59$	80,97 ± 1,31				
HS5		$6,96 \pm 0,06$	$33,69 \pm 0,18$	$38,90 \pm 0,24$	$79,54 \pm 0,00$				
HS6		$7,45 \pm 0,07$	$31,50 \pm 0,23$	$38,08 \pm 0,72$	$77,04 \pm 0,89$				
HS7	Cortão do Dojoú	$8,57 \pm 0,08$	$30,98 \pm 0,06$	$38,20 \pm 0,20$	$77,74 \pm 0,34$				
HS8	Sertão do Pajeú	11,37 ± 0,01	$27,35 \pm 0,14$	37,05 ± 0,11	$75,76 \pm 0,16$				
HS9		$7,24 \pm 0,02$	$31,53 \pm 0,10$	$41,43 \pm 0,35$	$80,20 \pm 0,43$				
HS10		$8,47 \pm 0,64$	36,12 ± 0,45	44,43 ± 1,17	$89,03 \pm 2,27$				
HS11		$7,89 \pm 0,06$	29,77 ± 1,13	$40,08 \pm 0,40$	77,74 ± 1,42				
HS12		6,68 ± 0,15	$31,46 \pm 0,30$	$40,59 \pm 0,54$	$78,73 \pm 0,70$				
HS13		$8,24 \pm 0,10$	29,34 ± 0,14	$42,09 \pm 0,25$	$79,67 \pm 0,39$				
HS14		$7,65 \pm 0,09$	29,66 ± 0,18	$44,43 \pm 0,20$	81,77 ± 0,32				
HS15	Sertão do	5,73 ± 0,10	32,00 ± 0,17	46,24 ± 0,20	83,97 ± 0,07				
HS16	Moxotó	$6,79 \pm 0,10$	$33,53 \pm 0,13$	$49,38 \pm 0,22$	$89,70 \pm 0,08$				
HS17		10,92 ± 0,21	29,52 ± 0,14	40,48 ± 0,28	80,92 ± 0,37				
HS18	Agreste	9,53 ± 0,14	29,78 ± 0,07	40,16 ± 0,17	$79,46 \pm 0,33$				
HS19	· ·	9,61 ± 0,35	$30,73 \pm 0,37$	$40,72 \pm 0,32$	$81,05 \pm 0,38$				
HS20	042	8,17 ± 0,35	30,68 ± 0,16	44,79 ± 0,28	83,64 ± 0,36				
HS21	Sertão do	8,91 ± 0,02	$31,25 \pm 0,25$	45,86 ± 0,51	86,01 ±0,51				
HS22	Moxotó	9,06 ± 0,26	32,80 ± 0,18	44,91 ± 0,25	86,77 ± 0,25				
HS23	Amostra externa	40,99 ± 0,02	15,81 ± 0,25	18,87 ± 0,05	75,67 ± 0,35				
	Média	9,89	30,49	40,53	80,91				

Uma das amostras analisadas (HS23) corresponde a um mel comercial proveniente do estado de Minas Gerais que apresentou teor de sacarose acima de 41 g/ 100g de mel, o que está muito acima do permitido pela legislação. Isso indica adulteração por adição de xarope de sacarose e essa amostra pode ser considerada como referência negativa para as nossas análises.

## Determinação de proteínas totais

Além dos carboidratos, os méis possuem diversos outros compostos, como proteínas, aminoácidos e outros compostos nitrogenados. No geral, o teor desses compostos é muito baixo, com a proteína total com média 0,2% da massa total. As amostras analisadas mostraram teor de proteínas acima do esperado, cuja média foi de 5%, aproximadamente 25 vezes a mais do que comumente encontrado em méis comerciais (Tabela 4). Isso pode ser indicativo de alto conteúdo de pólen nas amostras.

Tabela 4 – Valores de proteínas e peptídeos totais encontrado nos méis do Sertão do Pajeú (HS1 até HS14), Agreste (HS17 até HS19) e Sertão do Moxotó (HS15, HS16, HS20 até HS22) do Estado de Pernambuco e amostra comercial (HS23).

Amostra	Microrregião	Proteínas totais (%)	HMF (mg/kg)	Atividade Diastásica (°G)		
HS1		5,19	151,22	14,461		
HS2		6,42	95,80	102,604		
HS3		5,76	89,06	45,345		
HS4		4,60	41,62	38,294		
HS5		4,50	40,27	33,362		
HS6		5,26	92,36	23,424		
HS7	Contão do Doios	5,42	76,05	30,322		
HS8	Sertão do Pajeú	ao do Pajeu 6,36		18,510		
HS9		4,69	82,79	22,560		
HS10		5,46	77,99	22,410		
HS11		5,26	44,76	41,250		
HS12		3,46	54,04	21,190		
HS13		5,75	104,79	26,377		
HS14		4,32	39,52	39,455		
HS15	Sertão do	4,46	5,99	13,653		
HS16	Moxotó	4,46	23,35	15,385		
HS17		4,97	6,74	23,808		
HS18	Agreste	5,61	14,67	22,019		
HS19		6,88	21,41	18,885		
HS20		4,35	2,10	13,150		
HS21	Sertão do		6,89	21,803		
HS22	Moxotó	4,87	18,11	16,859		
HS23	Amostra externa	3,82	20,96	0,000		
M	lédia	5,04	55,052	27,179		

Outro parâmetro importante para análise da qualidade do mel é o teor de HMF, uma vez que em méis frescos, essa substância está presente em concentrações muito

baixas ou mesmo ausente. A presença desse composto está normalmente relacionada a tempo de estocagem ou até mesmo superaquecimento dos méis. Dentre as amostras analisadas, aproximadamente 40% ficaram acima do limite máximo estabelecido pela legislação brasileira de até 60 mg/kg. Contudo, o teor de HMF é um parâmetro que está condicionado à atividade diastásica dos méis, parâmetro enzimático relacionado à atividade amilolítica. No geral, pela legislação brasileira, os méis devem apresentar o mínimo de 8 unidades na escala de Göthe para este parâmetro. Contudo, méis com baixo teor enzimático deve apresentar o mínimo 3 unidades, desde que seu teor de HMF não exceda 15 mg/kg, um quarto do previsto pela legislação em condições normais (MAPA, 2000). Praticamente todas as amostras analisadas apresentaram valores de atividade distática bem maiores do que preconizado na legislação (Tabela 4). Isso contrasta com o teor de HMF e indica que os méis do sertão não apresentaram superaquecimento, o que levaria a inativação da enzima, e que os valores de HMF parecem uma característica intrínseca do mel do sertão de Pernambuco, possível como produzido ainda nas flores das plantas da região. Deve-se destacar qua a amostra HS23 não apresentou nenhuma atividade diastática, corroborando a hipótese de adulteração daquele mel.

## Determinação de atividade antioxidante e compostos fenólicos totais

Outro conjunto importante de compostos são as moléculas fenólicas e moléculas com atividade antioxidantes, ácidos fenólicos e flavonoides, que são relacionados às propriedades medicinais/terapêutico descritas desde a antiguidade para o mel (AL-WAILI et al., 2014). Foram avaliadas a atividade antioxidante dos méis por três metodologias diferentes, tanto pelo fato da ausência de uma metodologia padronizada como pela necessidade de se atestar essas atividades de forma mais precisa. Em todas essas metodologias testadas a atividade antioxidante dos méis do sertão foi bastante alta em relação ao ácido ascórbico usado como referência (Tabela 5). Em consonância como esse resultado, foi observado alto teor de compostos fenólicos totais, na forma de flavonóis e flavonoides (Tabela 5).

## Análise de correlação entre as principais parâmetros físico-químicos

Os valores das análises físico-químicas foram combinados e submetidos a análise de correlação, que mostrou clara relação entre alguns dos parâmetros analisados, tais como condutividade e teor de cinzas. Isso já era esperado, uma vez

que cinzas é composto majoritariamente por minerais que influenciam diretamente a condutividade do sistema. Outros parâmetros diretamente relacionados foram flavonóis com flavonoides, pH com acidez e atividade diastásica com HMF. Por outro lado, o teor de carboidratos não sofre influência de nenhum outro fator analisado (Figura 3).

Tabela 5 - Análises de atividade antioxidante e do teor de fenóis, flavonóis e flavonoides totais do Sertão do Pajeú (HS1 até HS14), Agreste (HS17 até HS19) e Sertão do Moxotó (HS15, HS16, HS20 até HS22) do Estado de Pernambuco e amostra comercial (HS23).

Atividade antioxidante									
Amostra	Microrregião	FRAP*	DPPH**	FM***	Fenóis (mg/mL)	Flavonóis (mg/mL)	Flavonoides (mg/mL)		
HS1		454,834	84,0	86,78	2,510	2,545	0,518		
HS2		717,891	61,6	64,30	1,471	3,576	0,769		
HS3		442,106	90,5	92,23	2,399	1,951	0,277		
HS4		204,506	53,3	78,13	0,934	0,935	0,126		
HS5		248,349	55,6	75,95	1,082	0,990	0,136		
HS6		331,084	74,0	78,00	1,378	1,998	0,292		
HS7	Sertão do	327,549	85,0	78,88	1,737	1,560	0,292		
HS8	Pajeú	499,384	92,0	86,58	2,277	3,185	0,462		
HS9		349,470	82,6	100,00	1,701	1,513	0,236		
HS10		316,941	87,2	100,00	1,453	2,138	0,327		
HS11		311,284	85,4	100,00	1,465	1,724	0,302		
HS12		295,020	55,2	99,25	1,639	1,138	0,191		
HS13		434,327	78,6	66,76	2,244	2,396	0,372		
HS14		299,970	69,4	90,60	1,651	1,529	0,241		
HS15	Sertão do	332,499	78,6	80,58	2,716	1,357	0,176		
HS16	Moxotó	331,084	78,6	86,78	2,528	1,427	0,231		
HS17		246,934	69,8	79,97	1,332	0,959	0,151		
HS18	Agreste	225,013	71,5	67,98	1,531	0,896	0,146		
HS19		219,356	51,5	60,90	1,253	0,935	0,131		
HS20	_	251,177	72,0	55,93	1,601	1,474	0,121		
HS21	Sertão do Moxotó	219,356	57,5	47,89	1,315	1,115	0,106		
HS22	IVIOXULU	245,520	80,5	59,26	1,447	1,451	0,166		
HS23	Amostra externa	285,120	33,7	91,69	1,088	0,779	0,141		
ı	<b>V</b> lédia	329,947	71,66	79,47	1,685	1,634	0,257		

<sup>\*</sup> µM de sulfato ferroso/mL de mel

<sup>\*\*%</sup> de DPPH reduzido em 15 minutos

<sup>\*\*\*%</sup> de fosfomolibidênio reduzido

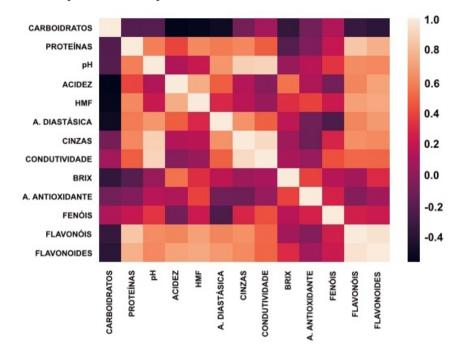


Figura 3 – Avaliação da correlação entre as análises realizadas nas amostras dos méis

#### Discussão

A composição química e os parâmetros físico-químicos dos méis podem variar de acordo com diversos fatores, como região geográfica, espécie de abelha, florada de origem, forma de manuseio, entre outros fatores (ANKLAM, 1998; KÜÇÜK et al., 2007). O semiárido no Nordeste do Brasil, onde se encontram as regiões de coleta, possui uma área vasta de aproximadamente 735 mil km<sup>2</sup>, e é onde predomina um bioma com características únicas, a Caatinga. Esse bioma possui uma área extensa, ocorre exclusivamente no Nordeste Brasileiro, e abriga uma vasta variedade de plantas em um clima tropical seco, sendo uma das regiões de semiárido com maior diversidade biológica do mundo, com um número expressivo de plantas que servem de fonte de néctar para as abelhas (SANTOS et al., 2005; SANTOS et al., 2014). Maia-Silva et al. (2012) catalogou plantas visitadas por abelhas na Caatinga, com mais de 50 espécies de plantas melíferas diferentes. Entre elas, algumas floradas foram identificadas como possível origem botânica dos méis coletados, como aroeira, umbuzeiro e angico. Os méis do Nordeste são oriundos da vegetação nativa, sem a utilização de pastos apículas, o que torna difícil a ocorrência de méis monoflorais. A maioria são de florada mista, fruto de diversas espécies de plantas presentes em um

pequeno espaço. Portanto, o mel produzido deve refletir muitas das propriedades intrínsecas da vegetação de origem. Por exemplo, a aroeira é uma planta melífera que é popularmente conhecida pelas diversas propriedades farmacológicas. O angico também possui propriedades medicinais, além de aplicações em outros segmentos como a culinária. Assim como outras espécies, essas citadas possuem períodos de floração na estação seca, períodos extensos na Caatinga (MAIA-SILVA et al., 2012).

Devido a essa diversidade de espécies de plantas que podem ser visitadas pelas abelhas em diferente período do ano e os méis podem apresentar propriedades bem distintas. Dentre os méis analisados, os aspectos sensoriais como cor, variam significativamente entre as amostras, mesmo de regiões geograficamente próximas (Figuras 1 e 2). A cor dos méis depende de diversos fatores, como composição mineral deles, teor de compostos fenólicos, entre outros. No geral, méis claros tendem a ter um teor mineral menor, consequentemente o teor de cinzas desses méis também é menor (GÓMEZ PAJUELO, 1995). Nas amostras coletadas nem sempre essa tendência foi observada, algumas amostras de méis de coloração mais escura apresentaram teor de cinzas baixos. Contudo, não é possível associar a coloração apenas com o teor de minerais, consequentemente com o teor de cinzas, uma vez que esse parâmetro depende das características do material colhido pelas abelhas nas visitas às floradas (DE RODRIGUÉZ et al., 2004; FINOLA et al., 2007). No geral, as características físico-químicas dos méis ficaram dentro dos valores comumente encontrados da literatura para méis produzidos no Brasil (MARCHINI et al., 2004).

Outros parâmetros físico-químicos analisados foram pH e acidez livre. Os méis no geral possuem pH baixo, com média de 4,04 para as amostras analisadas. A acidez dos méis é devido a presença de ácidos orgânicos nos méis, que estão em equilíbrio com suas lactonas correspondentes, além da presença de íons inorgânicos, ésteres, entre outros compostos (FINOLA et al., 2007). Esse parâmetro pode variar de acordo com uma série de fatores, principalmente de acordo com a época de extração do mel, porém outros parâmetros também influenciam, como a variação dos ácidos orgânicos presentes devido a diversidade de fonte de néctar, atividade enzimática da glicose-oxidase que origina o ácido glucônico; ação das bactérias durante a maturação e presença de outros compostos (PÉREZ-ARQUILLUÉ et al., 1994; WHITE, 1975). No presente estudo, as amostras de mel foram semeadas, diretamente ou após diluição, em placas de Petri contendo meio BHI e estas incubadas a 37 °C por até uma semana. A ausência do crescimento de colônias

indicou que essas amostras estavam livres de contaminação bacteriana. Uma alta acidez pode indicar a fermentação dos açúcares em ácidos orgânicos, o que pode ocorrer devido ao armazenamento prolongado desses méis. Porém foi observado que no geral os méis do estado possuem acidez elevada, onde mesmo a amostra menos ácida (HS14) apresentou um valor relativamente alto, 27,5 meq/kg. Todos os demais parâmetros físico-químicos dos méis se mostraram dentro dos valores normalmente encontrados pela literatura e dentro dos valores aceitos pela legislação vigente do país em função às médias de valores descritos para amostras das cinco regiões do país (Tabela 6) (MAPA, 2000). Contudo, é possível observar que comparado aos méis de outras regiões descritas na literatura, os méis de Pernambuco analisados apresentaram uma média de acidez relativamente alta e próxima ao limite estabelecido na legislação, principalmente as amostras da Região do Sertão do Pajeú, onde muitas amostras apresentaram valores acima do permitido na legislação, caracterizando méis mais ácidos.

Dentre as análises realizadas, os valores encontrados nas análises de carboidratos chamaram atenção devido aos valores de sacarose encontrados. Um alto teor de sacarose aparente no mel pode indicar uma coleta prematura, uma vez que esse dissacarídeo ainda não foi completamente hidrolisado para os monossacarídeos constituintes glicose e frutose pela ação da enzima invertase secretada pelas abelhas (KÜÇÜK et al., 2007). Contudo, foi observado que altos teores de sacarose parecem ser algo comum nas amostras do Sertão e Agreste do Estado, que possui um valor médio de 8,48 quando comparadas às amostras produzidas dentro do estado (Tabela 3). Embora esses valores estejam acima do preconizado, não há sinais de adulteração do mel como o que foi detectado na amostra HS23 (Tabela 3). Os demais carboidratos, glicose e frutose apresentaram valores normais quando comparados aos encontrados na literatura.

Assim como o teor de sacarose é controlado através da legislação, outros parâmetros como HMF e atividade diastásica também são regulamentados e considerados padrões de qualidade dos méis. HMF é um composto orgânico cíclico produzido pelo processo de oxidação que leva à enolização de hexoses em condições ácidas ou através da reação de Maillard durante o processamento de alimentos ou longos períodos de estocagem (KUSTER, 1990; ROMÁN-LESHKOV *et al.,* 2006; MARKOWICZ, 2012; SHAPLA *et al.,* 2018). Apesar de apresentar valores médios dentro do estabelecido pela legislação, foi possível notar que algumas amostras

colhidas no Sertão do Pajeú apresentaram valores altos e muitas amostras ficaram fora dos valores máximos permitidos (Tabela 6). A ingestão de HMF por humanos ocorre basicamente através dos produtos alimentícios, e pode apresentar, juntamente com seus derivados, atividades citotóxicas, genotóxicas, mutagênicas e carcinogênicas (TEIXIDÓ et al., 2006), porém níveis seguros de ingestão ainda não estão bem definidos e até mesmo os efeitos, metabolismo e a forma de excretar esse composto ainda não é totalmente claro (SHAPLA et al., 2018). Contudo, as atividades diastásicas dos méis também apresentaram valores altos, sendo o mínimo permitido pela legislação de 8 na escala Gothe. O ideal é que os méis apresentem baixo teor de HMF e alto índice diastásico para serem considerados méis de qualidade.

Tabela 6 – Valores médio (com valores mínimos e máximos) da composição do mel de diferentes regiões do Brasil.

		. 09.00	o do Braom			
Parâmetro			Regiões*		_	
s	Sudeste	Sul	Nordeste	Centro	Norte	
Umidade	18,4	18,2	18,1	18,7	17,6	
(%)	(15,1 - 23,4)	(15,9 - 20,5)	(13,2-24,0)	(16,7-23,4)	(16,6-18,6)	
0	647,9	681,1	425,9	513,3	434,4	
Condutivida	(160,7 –	(261,7 –	(154,7 –	(178,0 –	(258,7 -	
de (S cm <sup>-1</sup> )	2865,0)	2383,3)	1667,7)	1157,0)	521,0)	
	4,05	3,8	3,6	3,7	3,4	
pН	(2,6-4,6)	(3,4-4,7)	(3,1-5,3)	(3,3-4,3)	(3,3-3,5)	
Acidez	26,8	25,5	23,6	16,5	34,1	
(meq kg <sup>-1</sup> )	(6,0-75,5)	(12,0-49,7)	(6,0-81,3)	(15,0-47,7)	(27,3-42,7)	
\/:i-ll	1702,6	1912,7	1907,2	1690,9	1997,5	
Viscosidad	(98,0 -	(280,0 -	(140,0 –	(380,0 -	(1320,0 –	
e (mPa.s)	5520,0)	6430,0)	6770,0)	3850,0)	2840,0)	
HMF	16,05	7,8	24,5	31,9	42,5	
(mg kg <sup>-1</sup> )	(0,0-247,0)	(0,1-157,3)	(0,4-268,4)	(0,9-191,6)	(0,9-157,3)	
Cipzos (%)	0,275	0,246	0,164	0,192	0,144	
Cinzas (%)	(0.02 - 0.92)	(0.02 - 1.58)	(0.01 - 0.66)	(0.05 - 0.60)	(0.09 - 0.21)	
ADT (0/ \	76,5	77,4	79,7	79,5	73,3	
ART (%)	(66,4-80,0)	(71,0 - 84,0)	(59,2-89,2)	(67,9 - 86,8)	(70,5-75,6)	
AD (0/ )	73,6	74,5	76,4	76,0	71,3	
AR (%)	(66,4-80,0)	(65,0-81,6)	(61,7 - 88,7)	(67,3 - 83,0)	(69,2-74,6)	
Sacarose	2,7	3,7	3,1	3,3	1,9	
(%)	(0,1-27,4)	(0,1-7,2)	(0,1-11,4)	(0,3-7,2)	(0,9-2,9)	
Proteínas	0,288	0,280	0,252	0,281	0,253	
(%)	(0.04 - 0.72)	(0,115 –	(0.06 - 0.706)	(0,17-0,50)	(0,13-0,32)	
. ,	• • • •	0,485)				

<sup>\*</sup>Sudeste: São Paulo (205 amostras) e Minas Gerais (42 amostras); Sul: Santa Catarina (20 amostras), Paraná (9 amostras) e Rio Grande do Sul (15 amostras); Nordeste: Bahia (173 amostras), Piauí (38 amostras) e Ceará (53 amostras); Centro-Oeste: Tocantins (21 amostras), Mato Grosso (8 amostras) e Mato Grosso do Sul (17 amostras); Norte: Rondônia (4 amostras).

Fonte: Marchini et al., 2004.

Outros compostos importantes no mel são os compostos antioxidantes, responsáveis pela maioria dos compostos bioativos no mel, que conferem ao mel efeitos possivelmente benéficos na saúde humana que vêm sendo estudados ao longo do tempo. O teor e o perfil fenólicos dos méis está diretamente ligado ao néctar coletado pelas abelhas. Foi observado que os méis de Pernambuco apresentam grandes quantidades de compostos fenólicos, o que pode explicar a alta atividade antioxidante observada nas amostras de méis (Tabela 5). Entre esses compostos, tem-se o ácido p-cumárico como sendo o composto fenólico mais abundante nos méis e responsável por uma alta atividade antioxidante. Outros compostos como ácido gálico, ácido cafeico, além de flavonoides como quercetina, genisteína, e outros também são responsáveis pela alta atividade antioxidante (SOCHA et al., 2011; CIANCIOSI et al., 2018). Desde a antiguidade, o mel vem sendo considerado um alimento com propriedades medicinais e vem sendo aplicado para esses fins desde então. O efeito terapêutico pode estar associado à presença de compostos antioxidantes, como ácidos fenólicos e flavonóides (AL-WAILI et al., 2014). Diversos estudos in vivo e in vitro vêm sendo realizados como forma de avaliar e comprovar os efeitos medicinais do mel na saúde humana. Tem sido debatido o possível efeito antimicrobiano, antiviral, anticâncer e antidiabético (PASUPULETI et al., 2017), embora ainda não haja nenhuma comprovação científica desses efeitos. O que se sabe é que os méis são ricos em série de compostos bioativos que podem trazer benefícios à saúde humana, propriedades essas herdadas da vegetação de origem, como por exemplo aroeira e angico, espécies conhecidas por suas propriedades medicinais (MAIA-SILVA et al., 2012; AL-WAILI et al., 2014; CIANCIOSI et al., 2018).

Essas diversas propriedades do mel, torna essa matriz interessante para a produção de produtos que podem agregar valor aos mesmos. Apesar de ser considerado um alimento nutricionalmente rico e fazer parte da alimentação humana desde a antiguidade, o consumo *per capita* no país é relativamente baixo, o que torna a principal forma de escoamento a exportação (VIDAL, 2019). Contudo, as características dos méis tornam esse alimento rico para a produção de derivados, como por exemplo bebidas fermentadas, como o caso do hidromel. O alto teor proteico, torna os méis do sertão e agreste adequado para o metabolismo fermentativo de leveduras, uma vez que esses compostos são essenciais para compor o perfil sensorial de bebidas destiladas. A maioria dos protocolos de produção de hidromel adiciona suplementos nutricionais para auxiliar o processo fermentativo, que em

condições padrões podem demorar semanas ou até meses para serem completadas. O maior teor protéico dos méis pode proporcionar uma diminuição na necessidade desses suplementos, ou até mesmo deixar de adicioná-los (IGLESIAS *et al.*, 2014; COOPER, 1982; VERSTREPEN *et al.*, 2003; HAZELWOOD *et al.*, 2008; VILA NOVA *et al.*, 2009). Além da produção de bebidas, os méis podem ter diversas aplicações como matriz para outros produtos, como o caso de cosméticos, uma vez que eles possuíam um alto teor de compostos fenólicos, o que resultou em um alto potencial antioxidante. Característica essa que vem sendo altamente valorizada em cosméticos e outros produtos (HADI; OMAR; AWADH, 2016).

Diante do exposto, conclui-se que o mel produzido no sertão da região Nordeste do Brasil, pelo menos aquele produzido na região do sertão do Pajeú e imediações, possui propriedades distintas do mel produzido em outras regiões. Seu alto teor proteico aumenta seu valor nutricional para humanos e animais de criação (doméstica ou pecuária) e ainda possibilita seu uso em processos fermentativos para a produção de bebidas fermentadas ou destiladas. Além disso, a alta atividade antioxidante detectada transforma esse mel em um produto nutracêutico, ou seja, com propriedades nutricionais e farmacêuticas combinadas. Certamente essas propriedades podem ajudar ainda mais na valorização do mel do sertão do estado, juntamente com sua característica orgânica, ou seja, livre de agrotóxicos, e permitir que se desenvolva uma agroindústria da apicultura do estado que contribua socialmente e economicamente para o desenvolvimento da região.

## **Agradecimentos**

À Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo financiamento dos projetos "Desenvolvimento de bebidas de alto valor agregado a partir do mel proveniente da apicultura e meliponicultora do sertão de Pernambuco", no Edital FACEPE 12/2020 para o Apoio a Pesquisas para Arranjos Produtivos Locais (Processo APQ-0434-2.12/20) e "INOVAMEL: Prospecção do ambiente de negócio para inovação da apicultura do sertão do Pajeú", aprovado no Edital FACEPE 02/2022 para Credenciamento de Ambientes para Inovação em Pernambuco – Lócus de Inovação 2022 (Processo APQ-0161-9.26/22) e concessão de bolsas de estudos.

#### Referências

AL-MAMARY, Mohamed; AL-MEERI, Ali; AL-HABORI, Molham. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. **Nutrition Research**, [S.L.], v. 22, n. 9, p. 1041-1047, set. 2002. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/s0271-5317(02)00406-2">http://dx.doi.org/10.1016/s0271-5317(02)00406-2</a>.

AL-WAILI, Noori S.; AL-WAILI, Faiza S.; AKMAL, Mohammed; ALI, Amjed; SALOM, Khelod Y.; GHAMDI, Ahmad A. Al. Effects of natural honey on polymicrobial culture of various human pathogens. **Archives Of Medical Science**, [S.L.], v. 2, p. 246-250, 2014. Termedia Sp. z.o.o.. <a href="http://dx.doi.org/10.5114/aoms.2012.28603">http://dx.doi.org/10.5114/aoms.2012.28603</a>.

ANKLAM, Elke. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 63, n. 4, p. 549-562, dez. 1998. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146(98)00057-0">http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146(98)00057-0</a>.

ARAÚJO, Thiago Antônio de Sousa; ALENCAR, Nelson Leal; AMORIM, Elba Lúcia Cavalcanti de; ALBUQUERQUE, Ulysses Paulino de. A new approach to study medicinal plants with tannins and flavonoids contents from the local knowledge. **Journal of Ethnopharmacology**, [S.L.], v. 120, n. 1, p. 72-80, out. 2008. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2008.07.032.

BENCHERIF, K.; DJABALLAH, Z.; BRAHIMI, F.; BOUTEKRABT, A.; DALPÈ, Y.; SAHRAOUI, A. Lounès-Hadj. Arbuscular mycorrhizal fungi affect total phenolic content and antimicrobial activity of *Tamarix gallica* in natural semi-arid Algerian areas. **South African Journal of Botany**, [S.L.], v. 125, p. 39-45, set. 2019. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2019.06.024">http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2019.06.024</a>.

CIANCIOSI, Danila; FORBES-HERNÁNDEZ, Tamara; AFRIN, Sadia; GASPARRINI, Massimiliano; REBOREDO-RODRIGUEZ, Patricia; MANNA, Piera; ZHANG, Jiaojiao; LAMAS, Leire Bravo; FLÓREZ, Susana Martínez; TOYOS, Pablo Agudo. Phenolic Compounds in Honey and Their Associated Health Benefits: a review. **Molecules**, [S.L.], v. 23, n. 9, p. 2322, 11 set. 2018. MDPI AG. http://dx.doi.org/10.3390/molecules23092322.

COOPER, Terrance G. Nitrogen Metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. **Cold Spring Harbor Monograph Archive**, Pittsburgh, v. 11, n. 0, p.39-99,1982.

FINOLA, Mónica S.; LASAGNO, Mirta C.; MARIOLI, Juan M.. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 100, n. 4, p. 1649-1653, jan. 2007. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.046">http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.046</a>.

GOMÉZ PAJUELO, Antonio. El color de la miel. Vida Apícola. 73: 20-25, 1995.

HADI, Hazrina; OMAR, Syarifah Shakira Syed; AWADH, Ammar Ihsan. Honey, a Gift from Nature to Health and Beauty: a review. **British Journal Of Pharmacy**, [S.L.], v.

1, n. 1, p. 46-54, 15 nov. 2016. University of Huddersfield Press. http://dx.doi.org/10.5920/bjpharm.2016.05.

HAZELWOOD, L. A. *et al.* The Ehrlich Pathway for Fusel Alcohol Production: a Century of Research on *Saccharomyces cerevisiae* Metabolism. **Applied And Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 74, n. 8, p.2259-2266, 15 fev. 2008. American Society for Microbiology. <a href="http://dx.doi.org/10.1128/aem.02625-07">http://dx.doi.org/10.1128/aem.02625-07</a>.

IGLESIAS, Antonio; PASCOAL, Ananias; CHOUPINA, Altino; CARVALHO, Carlos; FEÁS, Xesús; ESTEVINHO, Leticia. Developments in the Fermentation Process and Quality Improvement Strategies for Mead Production. **Molecules**, [S.L.], v. 19, n. 8, p. 12577-12590, 19 ago. 2014. MDPI AG. http://dx.doi.org/10.3390/molecules190812577.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. (org.). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p. Disponível em: <a href="http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016\_3\_19/analisedealimentosial">http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016\_3\_19/analisedealimentosial</a> 2008.pdf. Acesso em: 18 jan. 2023.

KÜÇÜK, Murat; KOLAYLđ, Sevgi; KARAOĞLU, Şengül; ULUSOY, Esra; BALTACđ, Cemalettin; CANDAN, Ferda. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 100, n. 2, p. 526-534, jan. 2007. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.010">http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.010</a>.

KUMARI, Sony; SARMAH, Neelanjana; HANDIQUE, A.K. Antioxidant activities of the unripen and ripen *Citrus aurantifolia* of Assam. **International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology**, [s. I], v. 2, n. 9, p. 4811-4816, set. 2013.

KUSTER, B. F. M.. 5-Hydroxymethylfurfural (HMF). A Review Focussing on its Manufacture. **Starch - Stärke**, [S.L.], v. 42, n. 8, p. 314-321, 1990. Wiley. http://dx.doi.org/10.1002/star.19900420808.

MAIA-SILVA, Camila; SILVA, Cláudia Inês; HRNCIR. Michael; QUEIROZ, Rubens Teixeira e IMPERATRIZ-FONSECA, Vera Lucia Guia de plantas visitadas por abelhas na caatinga, 1a ed, Fortaleza, CE: Editora Fundação Brasil Cidadão, 191 p. 2012.

MARCHINI, L.C.; SODRÉ, G.S.; MORETI, A.C.C.C. Mel brasileiro: composição e normas. Ribeirão Preto: A.S. Pinto, 2004a.111p.

MARKOWICZ Deborah Bastos, MONARO Érica, SIGUEMOTO Érica, SÉFORA M. Maillard reaction products in processed foods: pros and cons. In: **Valdez B (ed) Food industrial processes-methods and equipment,** 1st edn. InTech, Rijeka, pp 281–300, 2012.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. **Instrução Normativa Nº 11, de 20 de Outubro de** 

**2000**. Brasília, DF, Brasil, 20 out. 2000. Disponível em: <a href="https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/IN11de2000.pdf">https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/IN11de2000.pdf</a>.

ORUJEI, Y.; SHABANI, L.; SHARIFI-TEHRANI, M. Induction of glycyrrhizin and total phenolic compound production in licorice by using arbuscular mycorrhizal fungi. **Russian Journal of Plant Physiology**, [S.L.], v. 60, n. 6, p. 855-860, 13 out. 2013. Pleiades Publishing Ltd. <a href="http://dx.doi.org/10.1134/s1021443713050129">http://dx.doi.org/10.1134/s1021443713050129</a>.

PASUPULETI, Visweswara Rao; SAMMUGAM, Lakhsmi; RAMESH, Nagesvari; GAN, Siew Hua. Honey, Propolis, and Royal Jelly: a comprehensive review of their biological actions and health benefits. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, [S.L.], v. 2017, p. 1-21, 2017. Hindawi Limited. <a href="http://dx.doi.org/10.1155/2017/1259510">http://dx.doi.org/10.1155/2017/1259510</a>.

PEREZ-ARQUILLUE, C; CONCHELLO, P; A ARINO,; JUAN, T; A HERRERA,. Quality evaluation of Spanish rosemary (Rosmarinus officinalis) honey. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 51, n. 2, p. 207-210, 1994. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/0308-8146(94)90258-5.

PRIETO, Pilar; PINEDA, Manuel; AGUILAR, Miguel. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: specific application to the determination of vitamin e. **Analytical Biochemistry**, [S.L.], v. 269, n. 2, p. 337-341, maio 1999. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1006/abio.1999.4019.

RODRÍGUEZ, Graciela Ojeda de; FERRER, Betzabé Sulbarán de; FERRER, Alexis; RODRÍGUEZ, Belkis. Characterization of honey produced in Venezuela. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 84, n. 4, p. 499-502, mar. 2004. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146(02)00517-4.

ROMÁN-LESHKOV, Yuriy; CHHEDA, Juben N.; DUMESIC, James A.. Phase Modifiers Promote Efficient Production of Hydroxymethylfurfural from Fructose. **Science**, [S.L.], v. 312, n. 5782, p. 1933-1937, 30 jun. 2006. American Association for the Advancement of Science (AAAS). http://dx.doi.org/10.1126/science.1126337.

RUFINO, Maria do Socorro Moura; ALVES, Ricardo Elesbão; BRITO, Edy Sousa de; MORAIS, Selene Maia de; SAMPAIO, Caroline de Goes; PÉREZ-JIMÉNEZ, Jara; SAURA-CALIXTO, Fulgencio Diego. **Metodologia Científica**: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (frap). Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006. 4 p.

SHAPLA, Ummay Mahfuza; SOLAYMAN, Md.; ALAM, Nadia; KHALIL, Md. Ibrahim; GAN, Siew Hua. 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: effects on bees and human health. **Chemistry Central Journal**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 12-35, 4 abr. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <a href="http://dx.doi.org/10.1186/s13065-018-0408-3">http://dx.doi.org/10.1186/s13065-018-0408-3</a>.

SILVA, Cristiane Pavanello Rodrigues; AMARANTE, Jorge Manoel Buchdid; LACERDA, Rúbia Aparecida; BIANCALANA, Maria Lúcia das Neves. *Klebsiella* 

pneumoniae outbreak in a cancer unit of a general hospital: predisposing factors and evaluation of the impact of intervention measures. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 9, n. 3, p. 225-230, jun. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <a href="http://dx.doi.org/10.1590/s1413-86702005000300005">http://dx.doi.org/10.1590/s1413-86702005000300005</a>.

SMITH, P.K.; KROHN, R.I.; HERMANSON, G.T.; MALLIA, A.K.; GARTNER, F.H.; PROVENZANO, M.D.; FUJIMOTO, E.K.; GOEKE, N.M.; OLSON, B.J.; KLENK, D.C.. Measurement of protein using bicinchoninic acid. **Analytical Biochemistry**, [S.L.], v. 150, n. 1, p. 76-85, out. 1985. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(85)90442-7">http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(85)90442-7</a>.

SALATINO, Antonio; SALATINO, Maria Luiza Faria; NEGRI, Giuseppina. How diverse is the chemistry and plant origin of Brazilian propolis? **Apidologie**, [S.L.], v. 52, n. 6, p. 1075-1097, 1 out. 2021. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1007/s13592-021-00889-z.

SANTOS, Francisco K.G.; DANTAS FILHO, Antonio N.; LEITE, Ricardo H.L.; AROUCHA, Edna M.M.; SANTOS, Andarair G.; OLIVEIRA, Thiago A.. Rheological and some physicochemical characteristics of selected floral honeys from plants of caatinga. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [S.L.], v. 86, n. 2, p. 981-994, jun. 2014. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201420130064.

SOCHA, Robert; JUSZCZAK, Lesław; PIETRZYK, Sławomir; GAłKOWSKA, Dorota; FORTUNA, Teresa; WITCZAK, Teresa. Phenolic profile and antioxidant properties of Polish honeys. **International Journal Of Food Science & Technology**, [S.L.], v. 46, n. 3, p. 528-534, 24 fev. 2011. Wiley. <a href="http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02517.x">http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02517.x</a>.

TEIXIDÓ, E.; SANTOS, F.J.; PUIGNOU, L.; GALCERAN, M.T.. Analysis of 5-hydroxymethylfurfural in foods by gas chromatography—mass spectrometry. **Journal Of Chromatography A**, [S.L.], v. 1135, n. 1, p. 85-90, nov. 2006. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2006.09.023.

VERSTREPEN, Kevin J. et al. Flavor-active esters: Adding fruitiness to beer. **Journal Of Bioscience And Bioengineering**, [s.l.], v. 96, n. 2, p.110-118, jan. 2003. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/s1389-1723(03)90112-5.

VIDAL. Maria de Fátima. Evolução da produção de mel na área de atuação do BNB. Caderno Setorial ETENE. 4(62): 1-7. 2019.

VIDAL. Maria de Fátima. Produção de mel na área de atuação do BNB entre 2011 e 2016. Caderno Setorial ETENE.3(30): 1-12. 2018.

VILA NOVA, Meiriana Xavier et al. Yeast species involved in artisanal cachaça fermentation in three stills with different technological levels in Pernambuco, Brazil. **Food Microbiology**, [s.l.], v. 26, n. 5, p.460-466, ago. 2009. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2009.02.005">http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2009.02.005</a>.

WHITE, Jonathan W. Composition of honey. In: **Crane, E. (Ed.), Honey, A Comprehensive Survey**, vol. 5. Heinemann, London, UK, pp. 157–206, 1975.

WOISKY, Ricardo G; SALATINO, Antonio. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, [S.L.], v. 37, n. 2, p. 99-105, jan. 1998. Informa UK Limited. http://dx.doi.org/10.1080/00218839.1998.11100961.

#### 4.2 ARTIGO 2

Fermentação do mel de *Apis mellifera* do semiárido de Pernambuco para produção de hidromel: da seleção de levedura a ajustes do processo.

Rayssa Karla Silva<sup>1,2</sup>, Walter de Paula Pinto Neto<sup>1,2</sup>, Hélio Fernandes de Melo<sup>,3</sup>, Rafael Barros de Souza<sup>2</sup>, Marcos Antônio de Morais Júnior<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Genética de Microrganismos, Departamento de Genética, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco.

<sup>2</sup>Laboratório de Metabolismo Microbiano, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco.

<sup>3</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco

#### Resumo

O hidromel é uma bebida alcoólica produzida através da fermentação de uma solução de mel de abelha e é descrita como sendo uma das bebidas mais antigas conhecida pela humanidade. Mesmo promissora, a produção de hidromel enfrenta diversos problemas, como fermentações muito longas, baixas concentrações de nutrientes importantes, uma composição do mel muito variada, falta de uma linhagem de levedura adequada e um produtivo difícil de ser padronizado. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo analisar e selecionar uma linhagem de levedura capaz de produzir hidromel nas condições intrínsecas do mel em um tempo de fermentação aceitável. Dentre as linhagens testadas *Saccharomyces cerevisiae* JP1 se mostrou promissora, uma vez que conseguiu estabilizar a fermentação mais rápido que outras linhagens testadas. Ao variar alguns parâmetros de produção, a produtividade da levedura aumentou ainda mais. Contudo, é possível observar um alto teor de sacarose presente no meio, que pode indicar uma possível inibição na atividade da enzima invertase. Apesar de precisar de mais estudos para avaliar esses efeitos, é possível observar que as alterações podem impactar significativamente a

produção de uma hidromelaria, aumentando de forma expressiva o volume de hidromel produzido no ano, além de otimizar custos e aumentar os lucros.

Palayras-chave: Bebida. Levedura. Mel. Hidromel.

## Introdução

O hidromel é considerado a bebida fermentada mais antiga produzida pelas civilizações humanas, sendo inclusive precursor da cerveja e do vinho. É uma bebida muito popular na idade média na Europa ocidental e Grã-Bretanha e nos dias de hoje bastante popular em alguns países do leste europeu (GUPTA; SHARMA, 2009; RAMALHOSA et al., 2011). Esta é uma bebida alcoólica obtida através da fermentação do mosto de mel de abelha diluído, que algumas vezes é suplementado com sais minerais e outros nutrientes. O mosto fermentado final pode apresentar graduação alcoólica que varia entre 4 e 18% (v/v) dependendo das condições da fermentação. Nos últimos anos o interesse pela bebida tem sido despertado pela citação em obras literárias e pela aparição em obras cinematográficas (GUPTA; SHARMA, 2009; BARBOSA; MARTINS, 2017). Isso tem possibilitado a expansão do mercado do mel para além de seu uso in natura para a produção de uma bebida que agrega valor ao produto primário. No Brasil, o consumo per capita do mel é um dos menores do mundo, sendo que a grande parte da produção é exportada. Isto significa que o país dispõe de um grande volume de matéria-prima que poderia ser transformada em produtos secundários como o hidromel (BRASIL, 1994; VIDAL, 2019).

O mel brasileiro é considerado um produto de alta qualidade e possui excelente aceitação no mercado internacional. Destaca-se o mel produzido na região Nordeste do país, principalmente aqueles produzidos nas regiões do semiárido onde predomina o bioma Caatinga, um bioma único no mundo com um vasto número de plantas melíferas que fornecem néctar para as abelhas (SANTOS et al., 2005; SANTOS et al., 2014). Em estudo recente apresentou a alta qualidade do mel produzido na região do sertão do Pajeú, no estado de Pernambuco, a partir do alto conteúdo proteico e atividade antioxidante bem acima do que tem sido relatado justamente pela presença de flavonas e flavonoides (artigo em preparação). A presença desses compostos no néctar deve representar o processo adaptativo das plantas àquela condição edafoclimática de escassez de água e intensa luminosidade e grande variação da temperatura entre o dia e noite. Essas características únicas e quase exclusivas devem tornar ainda mais atrativos tanto mel como seus derivados no mercado nacional e internacional. No entanto, a produção de hidromel ainda carece de aprimoramentos operacionais que vão desde a definição da qualidade da matéria-prima até o uso de linhagens adequadas da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, ou mesmo outras espécies de levedura, em culturas puras ou mistas, capazes de promover a fermentação adequada do mosto de mel. As etapas posteriores de maturação e controle de contaminação também necessitam de aprimoramento tecnológico para se assegurar as propriedades organolépticas desejadas da bebida (SROKA; TUSZYNSKI, 2007; PEREIRA et al., 2009).

Neste contexto, a produção de hidromel se torna uma alternativa interessante, principalmente no ponto de vista dos produtores, devido ao aumento do valor agregado da principal matéria-prima de produção, o mel. Em relação à fermentação, a escolha da linhagem de levedura empregada na produção é um dos fatores determinantes para o processo e possui um papel fundamental para as características sensoriais da bebida, já que são as células que produzem não apenas o etanol como também as moléculas que conferem as propriedades sensoriais da bebida, tais como álcoois superiores e ésteres, e outras moléculas que conferem o chamado corpo da bebida e suas propriedades reológicas (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000). Atualmente são usadas principalmente linhagens comerciais de S. cerevisiae para vinificação. No entanto, essas linhagens estão adaptadas para fermentação do mosto de uva que apresenta 100 vezes mais nitrogênio na forma orgânica, como aminoácidos, do que o mosto de mel. Isso faz com que a produção das moléculas sensoriais normalmente derivadas do catabolismo dos aminoácidos seja mais fácil nesse mosto. A produção da maioria dessas moléculas ocorre pela chamada via de Herlich, na qual os aminoácidos em excesso são desaminados para formar os alfacetoácidos correspondentes e esses são descarboxilados para formar os alfacetoaldeídos. Essas moléculas são finalmente reduzidas com uso de NAD(P)H para formação dos chamados álcoois superiores (HAZELWOOD et al., 2008; SAERENS et al., 2008). Parte desses álcoois é condensado com acil-CoA para formação dos diferentes ésteres. O conjunto de álcoois e ésteres produzido em determinada fermentação define a qualidade sensorial daquela bebida juntamente com as

moléculas existentes no mosto e não metabolizadas pelas células de levedura. As fontes nitrogenadas também garantem o pleno funcionamento de funções celulares e metabólicas, assegurando o pleno funcionamento da biomassa fermentadora ao longo do processo de produção da bebida (SCHWARZ et al., 2020). No entanto, esse não é o cenário encontrado no mosto de mel, o que induz a suplementação nutricional ou a busca de novas linhagens de levedura mais eficientes na produção desses compostos a partir de um cenário de escassez nutricional (PEREIRA et al., 2009), tal qual acontece por exemplo com o mosto do caldo de cana-de-açúcar para produção da cachaça (VIDAL et al., 2012, 2015). Neste contexto, o presente trabalho teve como principal objetivo avaliar e selecionar linhagens de Saccharomyces cerevisiae capazes de produzir hidromel frente às condições intrínsecas do mel, a fim de otimizar a produção, proporcionando redução dos custos com tempo de fermentação e necessidade de suplementação nutricional.

#### Materiais e Métodos

## Microrganismos e amostra de mel

As linhagens utilizadas no presente estudo estão descritas na Tabela 1. Foram testadas linhagens de *S cerevisiae* LALVIN K1-V1116, comercializada pela empresa Lallemand Inc (Montreal, QC, Canadá), Red Star Premier Classique e *Côte des blancs*, ambas comercializadas pela Fermentis (Bélgica) e TR-313, comercializada pela empresa Rennaissance Yeast (Vancouver, BC, Canadá), utilizadas para a produção de vinho branco e espumantes e a linhagem CA-11, comercializada pela Angel Yeast Co (Hubei, China), utilizada para a produção de cachaça. Também foi testa a linhagem JP1 utilizada para a produção de cachaça e de etanol combustível a partir de caldo de cana-de-açúcar, comercializada pela empresa LNF sob a marca Fermol Distiller<sup>TM</sup> (Bento Gonçalves, RS, Brasil). O mel utilizado foi coletado no mês de novembro de 2021 no município de Serra Talhada, Pernambuco, de característica multifloral pela mistura de néctar proveniente principalmente de aroeira (*Schinus terebinthifolius*), umbuzeiro (*Spondias tuberosa*) e angico branco (*Anadenanthera colubrina*), todas plantas predominantes na região do semiárido de Pernambuco.

Tabela 1 – Linhagens utilizadas para a produção de hidromel

		~	Características do		
Linhagem	Empresa	Indicação	produto		
-		Tinto aromático,			
LALVIN K1-V1116	Lallemand Inc.	branco, colheita	Aroma floral fresco		
LALVIN KI-VIIIO	(Canadá)	tardia e	Aloma noral nesco		
		espumantes.			
		Indicada para			
		vinhos brancos de	Aromas naturais		
TR-313	Rennaissance	uvas Sauvignon			
IK-313	Yeast (Canadá)	Blanc, Riesling,	realçados das		
		Chenin Blanc,	variedades de uva		
		Semillon.			
	Fermentis	Vinhos tintos e	Aroma frutado,		
Côte des blancs	(Bélgica)	brancos e hidromel	especialmente de		
	(Deigica)	brancos e maromer	maçã		
	Fermentis	Vinhos brancos	Aromas e sabores		
Premier Classique	(Bélgica)	secos ou tintos de	complexos. Baixa		
	(Deigica)	guarda e hidromel	acidez volátil.		
CA-11	Angel Yeast Co	Cachaça	Sabor frutado		
OA-11	(China)	Cacilaça	Capoi iiutau0		
JP1	LNF (Brasil)	Etanol	*		

## Ensaios de fermentação com linhagens selecionadas

Para os ensaios de fermentação foi preparada uma solução de mel com água mineral estéril com BRIX inicial de 24 °Bx e sem suplementação nutricional chamada de mosto de fermentação. A concentração inicial de células utilizadas foi estabelecida de acordo com a densidade celular utilizada na produção de vinho, sendo 5 g de levedura seca para cada 20 L de mosto (0,25 g/L de biomassa). As células foram adicionadas ao mosto de mel. A fermentação ocorreu durante 30 dias a 20 °C e sem agitação. Coletas foram realizadas a cada 48 horas, centrifugas e o sobrenadante

(mosto fermentado) foi coletado e posteriormente utilizado para quantificação do consumo de carboidratos e produção de metabólitos.

Experimentos de fermentação foram repetidos em três condições: i) Mosto de mel com suplementação de 400 mg/L de sulfato de amônio; ii) Fermentação utilizando maior concentração inicial de células (1,25 g/L de biomassa) e iii) Fermentação com 1,25 g/L de células imobilizadas em alginato de cálcio. A fermentação foi realizada durante 30 dias a 20 °C sem agitação. Amostras foram coletadas como acima.

#### Imobilização celular

As células de *S. cerevisiae* JP1 foram suspensas em solução de alginato de sódio 1% (m/v) e os *pellets* foram obtidos pelo gotejamento desta em solução de cloreto de cálcio 0,3 M. As partículas foram mantidas na solução de cloreto de cálcio durante 24 horas e após esse período foram lavadas com água destilada estéril e utilizadas na fermentação do hidromel.

## Caracterização do hidromel

O mosto de mel e o fermentado foram analisados para quantificação de açúcares (glicose, frutose e sacarose), glicerol, ácido acético e etanol por HPLC (Cromatografia líquida de alta performance). As amostras foram diluídas com água deionizada e filtradas utilizando filtros 0,22 μm. A quantificação foi realizada utilizando HPLC equipado com detector por índice de refração (RID) (Agilent Technologies 1200 Series) e coluna de troca iônica HPX-87H+ (Aminex® HPX-87H+, Bio-Rad, USA). A fase móvel utilizada foi uma solução de 5 mM de H<sub>s</sub>SO<sub>4</sub> com vazão à 0,6 mL/min à 35 °C. Os metabólitos foram identificados de acordo com seus respectivos tempos de retenção e quantificados de acordo com suas curvas de calibração de cada composto (VIDAL *et al.*, 2013, VIDAL *et al.*, 2015). Foram ainda medidos os parâmetros de pH e acidez livre titulável utilizando uma solução de NaOH 0,05 mol/L para se elevar o pH da amostra para 8,3 (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

## Resultados

# Avaliação do potencial fermentativo de leveduras comerciais para a produção de hidromel

Seis linhagens comerciais de *S. cerevisiae* foram testadas para a produção de hidromel, das quais quatro são usadas para a produção de diferentes tipos de vinhos (Tabela 1). Essas linhagens foram escolhidas de acordo com relatos de produtores caseiros e pelo emprego em hidromelarias, e as linhagens Lalvin e a *Côte de blancs* são indicadas pelo fabricante como eficientes para a produção de hidromel. Duas linhagens são empregues para a produção de cachaça (Tabela 1). Todas as linhagens testadas apresentaram capacidade de atenuar o carboidrato presente no mel, mas nenhuma foi capaz de consumir todo o açúcar disponível no mosto de mel (Tabela 2). Isto resultou na produção de fermentados com alto teor de açúcar residual

Tabela 2 - Características do mosto de mel do sertão de PE fermentado (hidromel) por diferentes linhagens comerciais de Saccharomyces cerevisiae.

	Açúcar co	nsumido	Açúcar residual		Parâmetros fermentativos			Características do mosto				
Linhagem	(g/L)	(%)	Total (g/L)	Sacarose (g/L)	Glicose (g/L)	Frutose (g/L)	Etanol (g/L)	Y <sub>etanol</sub> (g/g)	Glicerol (g/L)	рН	Acidez (meq/kg)	Teor alcoólico (%)
Lalvin	217,8 ± 15,8	83,7 ± 4,1	41,75 ± 1,08	18,98 ± 0,52	1,52 ± 0,09	21,25 ± 0,48	102,1 ± 2,2	0,47 ± 0,02	6,7 ± 0,02	3,26	69,0 ± 1,5	12,94
Côte des blancs	199,6 ± 16,7	83,2 ± 1,1	39,36 ± 8,25	21,38 ± 1,31	2,15 ± 1,36	15,82 ± 5,61	88,5 ± 3,9	0,44 ± 0,05	6,7 ± 0,30	3,16	72,8 ± 1,7	11,21
Premier Classique	199,0 ± 13,1	83,0 ± 0,6	39,97 ± 5,15	20,84 ± 0,88	0,51 ± 0,35	18,62 ± 3,94	92,8 ± 2,5	0,47 ± 0,03	5,3 ± 0,17	3,23	61,5 ± 9,19	11,77
TR-313	220,5 ± 3,5	90,1 ± 0,5	23,17 ± 0,11	21,06 ± 0,16	0,00 ± 0,00	2,11 ± 0,05	98,2 ± 4,0	0,44 ± 0,03	5,8 ± 0,13	3,3	62,5 ± 3,5	12,45
CA-11	133,0 ± 2,0	55,7 ± 0,8	105,94 ± 2,01	19,83 ± 0,33	18,02 ± 0,28	68,09 ± 1,41	59,0 ± 2,2	0,44 ± 0,02	5,3 ± 0,09	3,17	52,0 ± 6,3	7,48
JP1	206,9 ± 11,1	86,1 ± 0,6	30,94 ± 0,59	20,67 ± 0,25	0,00 ± 0,00	10,26 ± 0,34	91,9 ± 0,11	0,44 ± 0,02	5,5 ± 0,16	3,42	55,0 ± 5,6	11,64

O maior teor alcoólico foi alcançado pela linhagem Lalvin (13% v/v) e menor pela linhagem CA-11 (7,5% v/v), o que também se refletiu na produção de glicerol e no rendimento em etanol (Tabela 2). Este último parâmetro apresentou valores elevados entre 0,44 g/g e 0,47 g/g, mostrando a alta capacidade fermentativa das seis linhagens em mosto de mel. O hidromel produzido apresentou característica ácida. O valor médio de pH foi de 3,2 (±0,09) no final da fermentação, sem grande variação entre as linhagens (Tabela 2). Já os valores de acidez, representando principalmente a acidez acética, variou nos dois grupos de levedura: as leveduras de vinho apresentaram os maiores valores (66,4±5,4 meq/kg) enquanto as leveduras de cachaça apresentaram os menores valores (53,5±2,1 meq/kg) (Tabela 2). Isso indica que as leveduras de vinho produziram 24% a mais de acetato do que as leveduras de cachaça ao longo dos 30 dias de fermentação.

A análise da cinética de fermentação mostrou que as linhagens de vinho apresentaram perfis fermentativos semelhantes (Figura 1a-d), diferindo do perfil fermentativo das linhagens de cachaça (Figura 1e,f). Nesse segundo grupo houve uma distinção entre as linhagens, com a CA-11 apresentando baixa velocidade de consumo de glicose na ordem de 1,8 g/dia dentre todas as linhagens testadas (Figura 1f). Por outro lado, a linhagem JP1 mostrou um comportamento bifásico do consumo de glicose, com velocidade média bastante alta de 5,4 g/L/dia nos primeiros 16 dias de fermentação que foi diminuída para 0,14 g/L/dia entre o 16° e o 30° dia de fermentação (Figura 1e). O consumo de frutose foi proporcional ao de glicose em todas as linhagens, indicando que houve co-consumo das duas hexoses e que não houve repressão catabólica do consumo de frutose pela glicose (Figura 1). Frutose, mas não glicose, foi completamente consumida pelas leveduras ao final dos 30 dias de fermentação, com exceção da linhagem CA-11 (Figura 1). Uma hierarquia de capacidade fermentativa das (JP1>TR-313>Lalvin>Premier linhagens Classique>Côte des blancs>CA-11) foi estabelecida com base na produção de etanol (Figura 2a) e da produtividade volumétrica (Figura 2b), refletindo a capacidade de consumo dos açúcares (Figura 1). Apesar de não possuir limite máximo de carboidratos para hidroméis considerados suaves pela legislação, a presença de altos teores de carboidratos não é desejada em bebidas (BRASIL, 2012).

Esses resultados mostram que a linhagem CA-11 se mostrou mais adequada para a produção de hidromel suave (com alto teor de açúcar e baixo de etanol), enquanto a TR-313 produziria um hidromel mais seco (com baixo teor de açúcar e alto

de etanol). O hidromel produzido pela linhagem Lalvin poderia apresentar um caráter mais licoroso, com médio tero de açúcar e alto de etanol. O hidromel produzido pela linhagem JP1 apresentou valores medianos de açúcar residual e teor alcoólico adequado. Essa linhagem teria ainda a vantagem de ser uma levedura local, o que poderia conferir um caráter de denominação de origem ao produto. A partir desse cenário, experimentos complementares foram realizados na tentativa de se aprimorar a produção de hidromel usando o mel do sertão de Pernambuco com a levedura nativa JP1.

Figura 1 – Perfil cinético de fermentação do mosto de mel por linhagens comerciais de *Saccharomyces cerevisiae* empregadas na produção de vinhos (paineis A-D) e de cachaça (paineis E, F). Foram determinados o consumo de sacarose (círculo vermelho), Glicose (círculo bege) e Frutose (círculo verde) e a produção de etanol (círculo azul) e glicerol (círculo roxo).

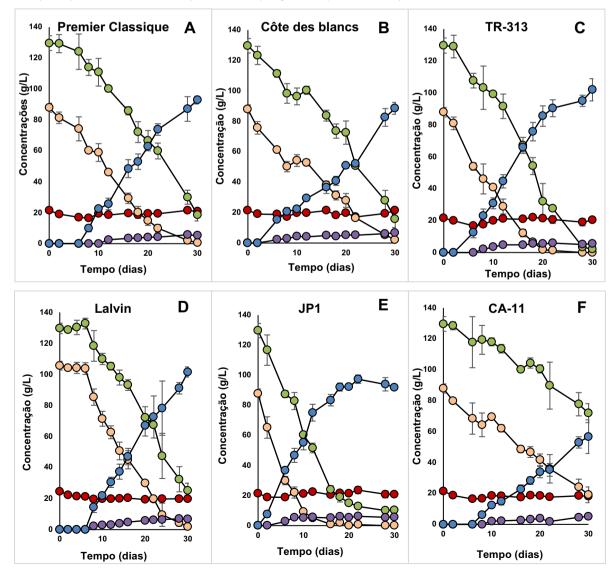
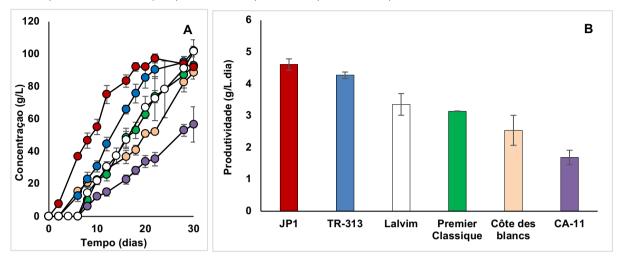


Figura 2 – Capacidade fermentativa de linhagens comerciais de *Saccharomyces cerevisiae* utilizadas na produção de vinhos e cachaça medida pela produção de etanol (painel A) e produtividade volumétrica de etanol (painel B) em mosto de mel do sertão de Pernambuco. Foram testadas as linhagens JP1 (círculo vermelho), TR-313 (círculo azul), Côte des blancs (círculo bege), Lalvin (círculo branco); Premier Classique (círculo verde) e CA-11 (círculo roxo).

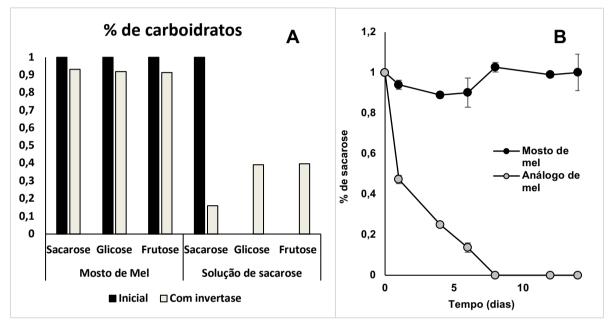


## Inibição da invertase extracelular de S. cerevisiae pelo mel de abelha do sertão

Foi bastante inusitado o fato de que a sacarose permaneceu praticamente inalterada durante todo o período de fermentação nas seis linhagens de levedura (Figura 1), sendo responsável pela maior parte do açúcar residual no mosto. A explicação mais plausível para esse fenômeno seria a inibição da enzima invertase no mosto de mel, que impossibilita a quebra da sacarose em glicose e frutose (Figura 1). Para se testar essa hipótese, células de JP1 foram cultivadas em meio mineral contendo sacarose como fonte de carbono e o sobrenadante dessa cultura rica em invertase foi coletado. Esse sobrenadante livre de células foi adicionado em duas soluções: mosto natural de mel e novamente solução de sacarose (Figura 3a). Foi verificado que a solução de invertase foi capaz de hidrolisar 80% da sacarose inicial no mosto análogo, produzindo 40% de glicose e de frutose a mais no meio. Por outro lado, as concentrações de sacarose, glicose e frutose se mantiveram inalteradas no mosto de mel misturado com a solução de invertase (Figura 3a). Como segundo teste, células de JP1 foram inoculadas para fermentação dos dois mostos. O resultado mostrou que a sacarose do meio análogo foi completamente hidrolisada no 8º dia de fermentação, enquanto a sacarose do mosto de mel se manteve praticamente inalterada ao longo dos 30 dias de fermentação (Figura 3b). Esses dois experimentos mostram inequivocamente que o mel do sertão do Pajeú apresenta na sua

composição pelo menos uma molécula que tem forte atividade inibitória da invertase de *S. cerevisiae*. Este é ponto que merece atenção e deve ser explorado em trabalhos posteriores, já que foge do escopo deste trabalho.

Figura 3 - Teste de inibição da atividade invertase da linhagem *Saccharomyces cerevisiae* JP1. (A) o sobrenadante rico em invertase foi misturado em mosto de mel ou mosto sintético e a concentração de açúcares ao final de 1 hora foi determinada. (B) Cinética de consumo da sacarose em mosto de mel (círculo preto) e em análogo de mel (círculo cinza) por células da linhagem JP1.

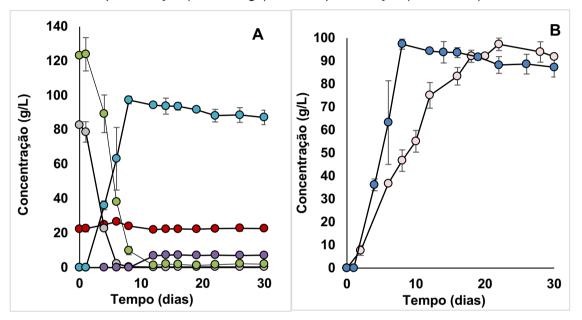


## Modificações nos parâmetros de fermentação para produção do hidromel com o mel do sertão de Pernambuco

Três variáveis foram testadas com o objetivo de se reduzir o custo de produção com a redução do tempo de fermentação (suplementação do mosto com amônio e aumento da carga celular) ou com o reciclo das células imobilização celular. No primeiro caso, o mosto de mel foi suplementado com sulfato de amônio para a concentração de nitrogênio total de 0,085 g/L (Figura 4). A linhagem JP1 foi escolhida para esses experimentos pelo bom resultado fermentativo obtido e pelo caráter regional de seu uso. O perfil fermentativo foi alterado em relação àquele com o mosto não suplementado. Houve co-consumo intenso das hexoses, com aumento na velocidade consumo de glicose mais que dobrou para 14 g/L/dia nos primeiros 8 dias de fermentação (Figura 4a), mas a sacarose manteve-se inalterada. No 12º dia de fermentação toda a hexose foi consumida. Portanto, a adição de amônio não apenas

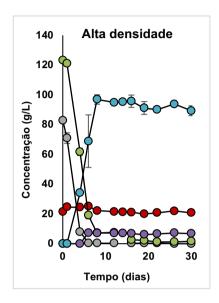
acelerou a fermentação como alterou um pouco as características do hidromel produzido por JP1, deixando ainda mais seco e com teor alcoólico adequado.

Figura 4 – Efeito da suplementação com amônio do mosto de mel do sertão de Pernambuco sobre o perfil fermentativo da levedura *Saccharomyces cerevisiae* JP1. (A) Consumo dos açúcares (sacarosecírculo vermelho; glicose – círculo cinza e frutose – círculo verde) e produção de etanol (círculo azul) e glicerol (círculo roxo). (B) Comparação da produção de etanol entre o mosto de mel sem suplementação (círculo bege) e com suplementação (círculo azul).



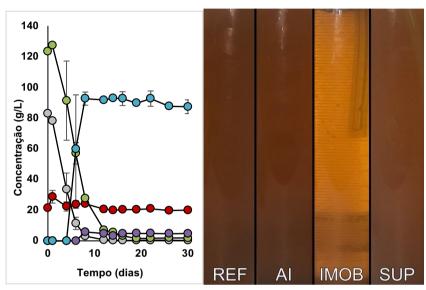
Em seguida, foram realizados experimentos de fermentação com cinco vezes mais a carga inicial de levedura do que a utilizada na produção de vinhos, mas sem a suplementação do mosto. Ao se eliminar a etapa de crescimento celular, característico dos primeiros dias de fermentação de mostos industriais, a cinética de fermentação teve uma alteração no seu perfil com consumo mais rápido dos carboidratos e consequentemente uma maior produtividade em relação ao etanol (Figura 5). O pico de produção de etanol foi observado no 8º dia de fermentação, coincidindo com a o consumo total da frutose e quase total da glicose. Mesmo nessa condição, a sacarose não foi consumida. Isso indica que o resultado obtido anteriormente com a suplementação com amônia é devido ao rápido incremento da população de leveduras promovido pela fonte de nitrogênio, gerando uma carga de biomassa que acelera a fermentação do mel.

Figura 5 – Efeito do aumento da carga de levedura sobre a cinética de fermentação do mosto de mel do sertão de Pernambuco pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* JP1. Foram determinados o consumo de sacarose (círculo vermelho), Glicose (círculo cinza) e Frutose (círculo verde) e a produção de etanol (círculo azul) e glicerol (círculo roxo).



No entanto, o aumento da densidade de células livres pode ocasionar problemas nas etapas de processamento da bebida. Portanto, experimentos foram realizados com o uso de células imobilizadas em matriz de alginato de cálcio. Nesta condição, o perfil fermentativo foi muito semelhante ao perfil fermentativo com alta carga celular, com pico de produção de etanol em 8 horas de fermentação e consumo total das hexoses com 12 h de fermentação (Figura 6A). Novamente a sacarose manteve-se intacta. Além disso, o hidromel produzido a partir de células imobilizadas ficou mais translúcido do que quando foram usadas células livres (Figura 6B). Essa limpidez do produto é uma característica comercial muito importante.

Figura 6 - Efeito do aumento da carga de levedura na fermentação do mosto de mel do sertão de Pernambuco pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* JP1. (A) Cinética de fermentação em mosto de mel com células imobilizadas. Foram determinados o consumo de sacarose (círculo vermelho), Glicose (círculo cinza) e Frutose (círculo verde) e a produção de etanol (círculo azul) e glicerol (círculo roxo). (B) Comparação da turbidez dos hidroméis produzidos com células imobilizadas e células livres nas diferentes condições testadas.



#### Cenário econômico para a produção em grande escala

Os efeitos que as alterações no processo produtivo testadas acima sobre a produção de hidromel foram analisadas do ponto de vista econômico. A simulação foi realizada com base nas informações fornecidas por uma empresa de pequeno porte localizada na cidade do Recife, Pernambuco, Brasil, que trabalha atualmente com processo fermentativo durando em média 30 dias na temperatura entre 18 e 20°C e maturação durando em média 7 dias na temperatura de 4 °C. São utilizadas linhagens de vinho incluídas na lista de linhagens testadas nesse trabalho (Tabela 1). Com uma estrutura que conta com 5 tanques de fermentação acoplada a sistema automático de refrigeração, a hidromelaria produz aproximadamente 2500 garrafas de 750mL por mês, totalizando 30 mil garrafas por ano que são processadas manualmente. Uma simulação financeira foi realizada levando em consideração dois cenários de produção: 30 dias de fermentação (em uso pela empresa) e a diminuição para 20 dias. Para essa redução, o modelo sugere o uso da linhagem JP1 sem aumento de carga celular e sem suplementação e na forma de células livres. Apenas essa mudança

aumentaria a produção em mais 11.250 L de hidromel por ano. Os custos mais relevantes foram contabilizados na como custos variáveis (incluindo os insumos de produção como garrafas, água, mel, levedura, rótulos e rolhas) e os impostos municipal, estadual e federal (Tabela 3). A diminuição em um terço do tempo de fermentação deve aumentar a produção de garrafas de hidromel em 50%. Mesmo que o custo total de produção também aumente em cerca de 50%, a elevação da recita bruta anual sugere que a margem de lucro do produtor pode ser aumentada em 88% do valor atual.

Tabela 3 – Impacto econômico da alteração da linhagem de levedura

Parâmetro	Tempo de fermentação		
Parametro	30 dias	20 dias	
Volume de produção (L)	22.500	33.750	
Quantidade de garrafa	30.000	45.000	
Custos variáveis	R\$ 260.568,00	R\$ 389.232,00	
Custos fixos	R\$ 95.280,00	R\$ 95.280,00	
Impostos e taxas	R\$ 558.720,00	R\$ 838.080,00	
Outras despesas	R\$ 125.712	R\$ 188.568,00	
Custo total	R\$ 1.039.000,00	R\$ 1.511.160,00	
Custo por garrafa	R\$ 34,64	R\$ 33,58	
Receita bruta	R\$ 1.164.000,00	R\$ 1.746.000,00	
Margem de lucro	R\$ 125.000,00	R\$ 234.840,00	
	Aumento na margem	<b>97 97</b> 0/	
	de lucro	87,87 %	

#### Discussão

A escolha de uma linhagem de levedura adequada para o processamento tem grande influência no produto quando se fala a respeito de bebidas, uma vez que o metabolismo desses micro-organismos é responsável pela produção de diversos compostos responsáveis pelo perfil sensorial da bebida, denominado de *flavors*, e pode produzir compostos indesejáveis, chamados *off-flavors* (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000). Portanto, torna-se indispensável a escolha adequada do micro-organismo para a produção. No geral, as leveduras para o hidromel são aquelas utilizadas para a produção de vinho, que apresentam características importantes

como: alta tolerância ao etanol e variações de temperatura, alta capacidade fermentativa e de sedimentação, produção de substâncias organolépticas de interesse e entre outras (PEREIRA et al., 2009; PRETORIUS, 2000).

Dentre todas as linhagens testadas, *S. cerevisiae* JP1, levedura isolada a produção de etanol combustível se mostrou a mais promissora no sentido de velocidade de atenuação dos carboidratos. Apesar de não ser a responsável pelo hidromel com maior teor alcoólico, dentre todas as linhagens testadas (Tabela 2), JP1 estabilizou a fermentação do hidromel em apenas 20 dias, enquanto outras linhagens apenas conseguiram teores alcoólicos próximos apenas com 28 ou 30 dias de fermentação (Figura 1). Com isso, essa linhagem torna-se uma possível substituta para linhagens de vinhos já empregadas hoje para a produção de hidromel. Apesar de boas fermentadoras, linhagens de vinho não são necessariamente mais adequadas, uma vez que o mosto de uva e o de mel possuem composições nutricionais muito distintas, principalmente em concentrações de fontes nitrogenadas, onde o sumo da uva possui aproximadamente cem vezes mais nitrogênio do que o mosto de mel (PEREIRA *et al.*, 2009). Essa deficiência em fontes nitrogenadas ocasiona fermentações mais lentas e/ou incompletas, em alguns casos demorando meses para serem finalizadas (SCHWARZ *et al.*, 2020).

A prática de suplementação do mosto de mel já é algo amplamente utilizado em alguns países produtores, a fim de fornecer nutrientes escassos ou inexistentes no mel. A principal forma de suplementação é através de compostos comerciais ou adição de sais nitrogenados, como é o caso do sulfato de amônio (IGLESIAS et al., 2014). Alguns países, como Espanha, têm empregado a adição de pólen apícola na produção de hidromel como fonte de suplementação nutricional. Esse suplemento adicionado ao mosto pode fornecer mais proteínas, aminoácidos, lipídeos, sais minerais, vitaminas e carotenoides importantes ao metabolismo de síntese de compostos sensoriais da bebida (IGLESIAS et al., 2014; ALMEIDA-MURADIAN et al., 2005; HUMAN; NICOLSON, 2006).

A adição de nutrientes, principalmente fontes de nitrogênio, possibilita o pleno funcionamento do metabolismo celular, ocasionando fermentações mais rápidas (Figura 5). E proporciona a síntese de compostos sensoriais, como álcoois superiores e ésteres, principais substâncias responsáveis pelo perfil sensorial da bebida. Os álcoois superiores, compostos alifáticos de cadeia média, podem ser produzidos a partir do metabolismo dos carboidratos através do piruvato ou a partir da via catabólica

derivada do metabolismo de assimilação de aminoácidos ramificados na via de Erlich. A síntese desses compostos está diretamente ligada a disponibilidade e ao tipo de fontes nitrogenadas presentes no mesmo de fermentação (ESPINOSA VIDAL, 2012).

Além de linhagens de vinhos, a produção de hidromel herdou também as práticas de produção dessa bebida, como mesmo inóculo inicial, mesma forma de acompanhamento do processo, o que muitas vezes não é adequado, devido as características do mel, como uma alta densidade como comparado a outras matrizes, entre outros. A alteração de alguns parâmetros pode proporcionar uma produção de hidromel mais adequada, com um menor tempo necessário para completar a fermentação, sem comprometer o perfil sensorial da bebida. Nesse contexto, a utilização de uma maior densidade celular inicial vem se tornando uma alternativa viável, devido a estabilização mais rápida do processo (Figura 4).

Em fermentações de cerveja, o inóculo inicial é relativamente baixo devido à multiplicação celular que ocorre no início da fermentação. Essa etapa, que está diretamente ligada a disponibilidade de oxigênio inicial é extremamente importante para o desempenho fermentativo e para a síntese de compostos sensoriais, principalmente os ésteres (KUCHARCKYK; TUSZYNSKI, 2017). Porém, assim como para a produção de aromas, a multiplicação inicial das células de levedura necessita de uma série de compostos escassos do mel, como é o caso das fontes nitrogenadas assimiláveis. Nesse contexto, a utilização de maiores densidades celulares iniciais, proporcionar uma diminuição na fase de multiplicação celular e consequentemente a demanda inicial por compostos nitrogenados (HE et al., 2014). Contudo, o aumento do inóculo pode ocasionar problemas na fase de acabamento da bebida, tornando o processo de clarificação mais difícil. Nesse contexto, a utilização de células imobilizadas pode se tornar uma alternativa. Essa técnica vem sendo emprega como forma de aumentar a estabilidade das células de levedura frente aos estresses físico-químicos comuns do processo fermentativo, além de aumentar a produtividade e melhorar a qualidade do produto (KOURKOUTAS et al., 2004; KOSSEVA, 2011; REDDY et al., 2011).

Contudo, apesar de variar a linhagem de levedura e alguns parâmetros de produção, foi possível observar um alto teor de carboidratos mesmo ao fim de 30 dias de fermentação, principalmente sacarose, em todas as condições testadas. Ao realizar testes de inibição foi possível observar a invertase pode estar sendo inibida nos méis (Figuras 6A e 6B). O mel é uma matriz altamente complexa, que possui

propriedades descritas como antimicrobianas, antioxidantes, entre outras (PASUPULETI et al., 2017). Estima-se que há mais de 180 compostos presentes em matriz que conferem essas e outras propriedades ao mel (KÜÇÜK et al., 2007; FINOLA et al., 2007). É possível que dentre esses compostos, existam alguns que possam estar atuando como possível inibidor da invertase. Contudo, são necessários mais estudos para validar e elucidar como essa inibição ocorrer e se de fato é algo recorrente em méis de diferentes floras e regiões.

Apesar de necessitar mais estudos, é possível avaliar o efeito que as mudanças podem acarretar uma produção industrial. Ao simular os efeitos dos experimentos em uma condição real de produção, apenas pela mudança de linhagem de levedura é possível observar um grande impacto na produção (Tabela 3). Ao utilizar uma levedura que seja mais adequada as condições intrínsecas do mel, a redução no tempo necessário de fermentação pode acarretar ganhos tantos no sentido financeiro como qualidade no produto. Um processo de fermentação mais acelerado pode diminuir as chances de contaminação durante o processo. Com a redução do tempo de fermentação de 30 para 20 dias, o volume produzido aumentaria em mais de 11 mil litros. Com isso, as alterações dos demais parâmetros podem aumentar ainda mais o volume de produção e diminuir os custos por litro de hidromel. Contudo, estudos a cerca dos impactos dessas alterações no perfil sensorial precisam ser realizados, para proporcionar um produto de qualidade sensorial similar ao produzido com o protocolo atual.

#### Conclusão

Hidromel é uma das bebidas alcoólica mais antigas da história, que é produzida através da fermentação de uma solução de mel por leveduras adequadas. Contudo, apesar de antiga, o processo enfrenta diversos problemas, que vão desde as características intrínsecas do mel até ao protocolo de produção inadequado para essa bebida, o que ocasiona fermentações longas, hidroméis com características organolépticas indesejadas, entre outros problemas. Apesar de iniciais, os dados apontam que a linhagem *S. cerevisiae* JP1 pode ser uma linhagem promissora para a produção de hidromel devido a sua alta produtividade mesmo em condições de escassez de nutrientes essenciais. Além da escolha adequada, a mudança de alguns parâmetros pode proporcionar a diminuição na ocorrência desses gargalos de

produção, uma vez que com a diminuição do tempo de fermentação, a produção estaria menos suscetível a contaminações bacterianas. Essas mudanças podem proporcionar um maior fluxo de produção, aumentando assim o volume de hidromel produzido. Contudo, estudos a respeito dos impactos dessas mudanças no perfil sensorial da bebida ainda precisam ser avaliados para garantir a produção de um hidromel com características organolépticas desejáveis.

#### **Agradecimentos**

À Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo financiamento dos projetos "Desenvolvimento de bebidas de alto valor agregado a partir do mel proveniente da apicultura e meliponicultora do sertão de Pernambuco", no Edital FACEPE 12/2020 para o Apoio a Pesquisas para Arranjos Produtivos Locais (Processo APQ-0434-2.12/20) e "INOVAMEL: Prospecção do ambiente de negócio para inovação da apicultura do sertão do Pajeú", aprovado no Edital FACEPE 02/2022 para Credenciamento de Ambientes para Inovação em Pernambuco – Lócus de Inovação 2022 (Processo APQ-0161-9.26/22) e concessão de bolsas de estudos.

#### Referências

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; PAMPLONA, Lucila C.; COIMBRA, Sílvia; BARTH, Ortrud Monika. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. **Journal of Food Composition And Analysis**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 105-111, fev. 2005. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2003.10.008">http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2003.10.008</a>.

BARBOSA, A. B.; MARTINS, E. A. Produção Artesanal de Hidromel. 6ª Jornada Científica e Tecnológica da FATEC de Botucatu, Botucatu, SP, 23-27 outubro 2017.

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 04 de junho 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. Regulamento da Lei Nº 8.918, de 14 de Julho de 1994. Brasília, DF. Disponível em:

https://www.planalto.gov.br/ccivil 03/ Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm. Acesso em: 20 dez. 2022;

ESPINOSA VIDAL, Esteban. Influência da Fonte de Nitrogênio no Perfil Fermentativo, Transcriptômico, e na Produção de Álcoois Superiores em Saccharomyces cerevisiae. 2012. 87 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pósgraduação

em Genética, Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012. Disponível em:

https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/12285/1/Espinosa%20Vidal%20Tese %20Doutoral.pdf. Acesso em: 02 fev. 2022.

FINOLA, Mónica S.; LASAGNO, Mirta C.; MARIOLI, Juan M.. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 100, n. 4, p. 1649-1653, jan. 2007. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.046">http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.046</a>.

GUPTA, J. K.; SHARMA, Rajesh. Production technology and quality characteristics of mead and fruit-honey wines: a review. **Natural Product Radiance**, Nauni Solan, v. 8, n. 4, p. 345-355, 18 jun. 2009. Disponível em: <a href="http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/5987/1/NPR%208%284%29%20345-355.pdf">http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/5987/1/NPR%208%284%29%20345-355.pdf</a>. Acesso em: 10 dez. 2022.

HAZELWOOD, Lucie A.; DARAN, Jean-Marc; VAN MARIS, Antonius J. A.; PRONK, Jack T.; DICKINSON, J. Richard. The Ehrlich Pathway for Fusel Alcohol Production: a century of research on saccharomyces cerevisiae metabolism. **Applied And Environmental Microbiology**, [S.L.], v. 74, n. 8, p. 2259-2266, 15 abr. 2008. American Society for Microbiology. <a href="http://dx.doi.org/10.1128/aem.02625-07">http://dx.doi.org/10.1128/aem.02625-07</a>.

HE, Yang et al. Wort composition and its impact on the flavour-active higher alcohol and ester formation of beer - a review. **Journal Of The Institute Of Brewing**, [s.l.], v. 120, n. 3, p.157-163, jun. 2014. Wiley. http://dx.doi.org/10.1002/jib.145.

HUMAN, Hannelie; NICOLSON, Sue W. Nutritional content of fresh, bee-collected and stored pollen of *Aloe greatheadii* var. *davyana* (Asphodelaceae). **Phytochemistry**, [S.L.], v. 67, n. 14, p. 1486-1492, jul. 2006. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.05.023.

IGLESIAS, Antonio; PASCOAL, Ananias; CHOUPINA, Altino Branco; CARVALHO, Carlos Alfredo; FEÁS, Xesús; ESTEVINHO, Leticia. Developments in the Fermentation Process and Quality Improvement Strategies for Mead Production. Molecules, [s. I], v. 19, n. 8, p. 12577-12590, 19 ago. 2014. MDPI Open Access Jounals. <a href="https://doi.org/10.3390/molecules190812577">https://doi.org/10.3390/molecules190812577</a>;

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. (org.). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p. Disponível em: <a href="http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016\_3\_19/analisedealimentosial\_2008.pdf">http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016\_3\_19/analisedealimentosial\_2008.pdf</a>. Acesso em: 18 jan. 2023.

KOSSEVA, M.R. Immobilization of microbial cells in food fermentation processes. Food Bioprocess Technol, 2011, 4 (6), 1089–1118.

KOURKOUTAS, Y., BEKATOROU, A., BANAT, I.M, MARCHANT, R., KOUTINAS, A.A. Imobilization technologies and support material suitable in alcohol beverage production: a review. **Food microbiology**, V. 21, p.373-397, 2004.

KUCHARCZYK, Krzysztof; TUSZYńSKI, Tadeusz. The effect of wort aeration on fermentation, maturation and volatile components of beer produced on an industrial scale. **Journal Of The Institute Of Brewing**, [S.L.], v. 123, n. 1, p. 31-38, jan. 2017. The Institute of Brewing & Distilling. http://dx.doi.org/10.1002/jib.392.

KÜÇÜK, Murat; KOLAYLđ, Sevgi; KARAOĞLU, Şengül; ULUSOY, Esra; BALTACđ, Cemalettin; CANDAN, Ferda. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 100, n. 2, p. 526-534, jan. 2007. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.010">http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.010</a>.

LAMBRECHTS, M.g.; PRETORIUS, I.s.. Yeast and its Importance to Wine Aroma - A Review. South African Journal Of Enology And Viticulture, South Africa, v. 21, p.97-129, 2000.

PASUPULETI, Visweswara Rao; SAMMUGAM, Lakhsmi; RAMESH, Nagesvari; GAN, Siew Hua. Honey, Propolis, and Royal Jelly: a comprehensive review of their biological actions and health benefits. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, [S.L.], v. 2017, p. 1-21, 2017. Hindawi Limited. <a href="http://dx.doi.org/10.1155/2017/1259510">http://dx.doi.org/10.1155/2017/1259510</a>.

PEREIRA, Ana Paula *et al.* Mead production: selection and characterization assays of *Saccharomyces cerevisiae* strains. Food Chem Toxicol., Bragança, v. 47, n. 8, p. 2057-2063, ago. 2009. Elsevier. <a href="https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.05.028">https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.05.028</a>.

PRETORIUS, Isak S. Tailoring wine yeast for the new millennium:: novel approaches to the ancient art of winemaking. Yeast, Stellenbosch, v. 18, n. 8, p. 675-729, 07 jun. 2000. Disponível em: <a href="https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/1097-0061%2820000615%2916%3A8%3C675%3A%3AAID-YEA585%3E3.0.CO%3B2-B.">https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/1097-0061%2820000615%2916%3A8%3C675%3A%3AAID-YEA585%3E3.0.CO%3B2-B.</a>
Acesso em: 15 out. 2022. Wiley Online Library. <a href="https://doi.org/10.1002/1097-0061(20000615)16:8<675::AID-YEA585>3.0.CO;2-B.">https://doi.org/10.1002/1097-0061(20000615)16:8<675::AID-YEA585>3.0.CO;2-B.</a>

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.

REDDY, L.V., REDDY, L.P., WEE, Y.-J., REDDY, O.V.S. Production and characterization of wine with sugarcane piece immobilized yeast biocatalyst. Food Bioprocess Technol., 2011, 4, 142–148.

SAERENS, S. M. G.; DELVAUX, F.; VERSTREPEN, K. J.; VAN DIJCK, P.; THEVELEIN, J. M.; DELVAUX, F. R.. Parameters Affecting Ethyl Ester Production by Saccharomyces cerevisiae during Fermentation. **Applied And Environmental Microbiology**, [S.L.], v. 74, n. 2, p. 454-461, 15 jan. 2008. American Society for Microbiology. <a href="https://dx.doi.org/10.1128/aem.01616-07">http://dx.doi.org/10.1128/aem.01616-07</a>.

SCHWARZ, Luisa Vivian *et al.* Selection of low nitrogen demand yeast strains and their impact on the physicochemical and volatile composition of mead. Journal Of Food Science And Technology, [S.L.], v. 57, n. 8, p. 2840-2851, 2 mar. 2020.

Springer Science and Business Media LLC. <a href="http://dx.doi.org/10.1007/s13197-020-04316-6">http://dx.doi.org/10.1007/s13197-020-04316-6</a>.

SROKA, Paweł; TUSZYńSKI, Tadeusz. Changes in organic acid contents during mead wort fermentation. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 104, n. 3, p. 1250 1257, jan. 2007. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.046;

VIDAL, Esteban Espinosa; BILLERBECK, Gustavo M. de; SIMÕES, Diogo Ardaillon; SCHULER, Alexandre; FRANÇOIS, Jean Marie; MORAIS, Marcos Antonio de. Influence of nitrogen supply on the production of higher alcohols/esters and expression of flavour-related genes in cachaça fermentation. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 138, n. 1, p. 701-708, maio 2013. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.147.

VIDAL, Esteban Espinosa; MORAIS JUNIOR, Marcos Antonio de; FRANÇOIS, Jean Marie; BILLERBECK, Gustavo M. de. Biosynthesis of higher alcohol flavour compounds by the yeastSaccharomyces cerevisiae: impact of oxygen availability and responses to glucose pulse in minimal growth medium with leucine as sole nitrogen source.. **Yeast**, [S.L.], p. 47-56, out. 2014. Wiley. <a href="http://dx.doi.org/10.1002/yea.3045">http://dx.doi.org/10.1002/yea.3045</a>.

VIDAL. M.F. Evolução da produção de mel na área de atuação do BNB. Caderno Setorial ETENE. 4(62): 1-7. 2019.

#### **5 CONCLUSÕES**

O hidromel é uma bebida que pode apresentar propriedades muito distintas dependendo do mel utilizando para sua produção, uma vez que o mesmo pode ter características muito distintas de acordo com sua origem botânica. Nesse contexto, os méis do Sertão e Agreste de Pernambuco se mostram fontes interessantes devido ao alto teor proteico, atividade antioxidante elevada, entre outros parâmetros que podem agregar valor nutricional não apenas para a produção de hidromel, como de outros derivados. Apesar de promissora, os entraves encontrados na produção ainda são muitos e podem onerar o processo. A utilização de linhagens adequadas e a alteração de alguns parâmetros podem se tornar a chave para a obtenção de produtos com alta qualidade. Com isso, a linhagem industrial Saccharomyces cerevisiae JP1, originalmente empregada para a produção de hidromel, se mostrou a melhor linhagem para a produção de uma bebida fermentada em uma matriz com características como o mel. Essa levedura apresentou maior potencial de atenuação dos carboidratos mesmo em mosto sem suplementação. Além de empregar uma linhagem adequada, os ajustes no processo podem proporcionar a diminuição no tempo de fermentação, uma vez que na condição com suplementação ou maior densidade celular inicial o tempo de estabilização da fermentação caiu de 20 dias para 8 dias com a linhagem JP1. Com isso, simulando as mudanças em uma hidromelaria de pequeno porte, o aumento na produção seria de aproximadamente 45%, ocasionando um aumento nos lucros de mais de 87%. Contudo, estudos a cerca do impacto dessa modificação no perfil sensorial da bebida precisam ser realizados com o intuito de validar e por fim empregar esses ajustes a nível industrial.

#### **6 SÚMULA CURRICULAR**

- Participação da Comissão Organizadora do 1º Encontro de Bioeconomia do Mel de Pernambuco. Triunfo, Pernambuco. 2022.
- Publicação de um capítulo de livro intitulado "Produção de cerveja sem álcool: aplicabilidade de leveduras não Saccharomyces em Microcervejarias" no livro Bebidas Fermentadas e Destiladas: Pesquisas e Aplicabilidade. 1ed.: Editora IME, 2022, v. 1, p. 29-33. Link:
- Apresentação do trabalho intitulado "Avaliação do potencial antioxidante dos méis da espécie Apis mellifera de diferentes floradas" no 1º Encontro de Bioeconomia do Mel de Pernambuco. Triunfo, Pernambuco. 2022
- Apresentação do trabalho intitulado "Potencial de síntese de substâncias organolépticas para produção de bebidas a partir do mel de abelha do Sertão de Pernambuco" no 1º Encontro de Bioeconomia do Mel de Pernambuco
- Resumo publicado em anais de congresso intitulado "O antagonismo entre magnésio e cobre no metabolismo fermentativo da Saccharomyces cerevisiae".
   In: XIII Simpósio Brasileiro de Microbiologia Aplicada, 2021, Porto Alegre. Anais do XIII Simpósio Brasileiro de Microbiologia Aplicada, 2021.

#### **REFERÊNCIAS**

AL-MAMARY, Mohamed; AL-MEERI, Ali; AL-HABORI, Molham. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. **Nutrition Research**, [S.L.], v. 22, n. 9, p. 1041-1047, set. 2002. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/s0271-5317(02)00406-2">http://dx.doi.org/10.1016/s0271-5317(02)00406-2</a>.

ALEMU, Tewodros, SEIFU, Eyassu, BEZABIH, Amsalu. Postharvest handling, opportunities and constraints to honey production in northern Ethiopia. **Livestock Research for Rural Development**. Volume 27, Article #91. <a href="http://www.lrrd.org/lrrd27/5/tewo27091.html">http://www.lrrd.org/lrrd27/5/tewo27091.html</a>

ANKLAM, Elke. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 63, n. 4, p. 549-562, dez. 1998. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146(98)00057-0">http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146(98)00057-0</a>.

BARBOSA, A. B.; MARTINS, E. A. Produção Artesanal de Hidromel. 6ª Jornada Científica e Tecnológica da FATEC de Botucatu, Botucatu, SP, 23-27 outubro 2017. BOULTON, Chris; QUAIN, David. **Brewing Yeast and Fermentation.** Oxford: Blackwell Science Ltd, 2001.

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 04 de junho 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. **Regulamento da Lei Nº 8.918, de 14 de Julho de 1994**. Brasília, DF. Disponível em: <a href="https://www.planalto.gov.br/ccivil-03/">https://www.planalto.gov.br/ccivil-03/</a> Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm. Acesso em: 14 dez. 2022;

BRASIL. Instrução Normativa nº 34, de 29 de novembro de 2012. Complementação dos padrões de identidade e qualidade para as seguintes bebidas fermentadas: fermentado de fruta, fermentado de fruta licoroso, fermentado de fruta composto, sidra, hidromel, fermentado de cana e saquê ou sake. **Instrução Normativa Nº 34, de 29 de Novembro de 2012**. Brasília, DF, 28 jul. 2017. Disponível em: <a href="https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/vigilancia-agropecuaria/ivegetal/bebidas-arquivos/in-no-34-de-29-de-novembro-de-2012.pdf">https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/vigilancia-agropecuaria/ivegetal/bebidas-arquivos/in-no-34-de-29-de-novembro-de-2012.pdf</a>. Acesso em: 14 dez. 2022;

BRASIL. Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, autoriza a criação da Comissão Intersetorial de Bebidas e dá outras providências. **Lei Nº 8.918, de 14 de Julho de 1994**. Brasília, DF. Disponível em: <a href="https://www.planalto.gov.br/ccivil-03/LEIS/L8918.htm">https://www.planalto.gov.br/ccivil-03/LEIS/L8918.htm</a>. Acesso em: 14 dez. 2022;

CARRAU, Francisco M. et al. Production of fermentation aroma compounds by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts: effects of yeast assimilable nitrogen on two model strains. **Fems Yeast Research**, [s.l.], v. 8, n. 7, p.1196-1207, nov. 2008. Oxford University Press (OUP). <a href="http://dx.doi.org/10.1111/j.1567-1364.2008.00412.x">http://dx.doi.org/10.1111/j.1567-1364.2008.00412.x</a>

CASTRO-VÁZQUEZ, L.; DÍAZ-MAROTO, M.C.; GONZÁLEZ-VIÑAS, M.A.; PÉREZ-COELLO, M.s.. Differentiation of monofloral citrus, rosemary, eucalyptus, lavender, thyme and heather honeys based on volatile composition and sensory descriptive analysis. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 112, n. 4, p. 1022-1030, 15 fev. 2009. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.036">http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.036</a>.

COOPER, Terrance G. Nitrogen Metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. **Cold Spring Harbor Monograph Archive**, Pittsburgh, v. 11, n. 0, p.39-99,1982.

DE PAULA-NETO, F.L.; ALMEIDA-NETO, R.M. Apicultura nordestina: principais mercados, riscos e oportunidades. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil. Série Documentos do ETENE. n. 12: 1-78. 2006.

ESPINOSA VIDAL, Esteban. Influência da Fonte de Nitrogênio no Perfil Fermentativo, Transcriptômico, e na Produção de Álcoois Superiores em Saccharomyces cerevisiae. 2012. 87 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pósgraduação em Genética, Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012. Disponível em:

https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/12285/1/Espinosa%20Vidal%20Tese%20Doutoral.pdf.

FINOLA, Mónica S.; LASAGNO, Mirta C.; MARIOLI, Juan M.. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 100, n. 4, p. 1649-1653, jan. 2007. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.046">http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.046</a>.

GUPTA, J. K.; SHARMA, Rajesh. Production technology and quality characteristics of mead and fruit-honey wines: a review. **Natural Product Radiance**, Nauni Solan, v. 8, n. 4, p. 345-355, 18 jun. 2009. Disponível em: <a href="http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/5987/1/NPR%208%284%29%20345-355.pdf">http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/5987/1/NPR%208%284%29%20345-355.pdf</a>.

HAZELWOOD, L. A. *et al.* The Ehrlich Pathway for Fusel Alcohol Production: a Century of Research on *Saccharomyces cerevisiae* Metabolism. **Applied And Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 74, n. 8, p.2259-2266, 15 fev. 2008. American Society for Microbiology. <a href="http://dx.doi.org/10.1128/aem.02625-07">http://dx.doi.org/10.1128/aem.02625-07</a>

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Disponível em: <a href="https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/74">https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/74</a>. Acesso em: 01 fev. 2022.

IURLINA, Miriam O.; FRITZ, Rosalia. Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. **International Journal Of Food Microbiology**, [S.L.], v. 105, n. 3, p. 297-304, dez. 2005. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.017.

KÜÇÜK, Murat; KOLAYLđ, Sevgi; KARAOğLU, Şengül; ULUSOY, Esra; BALTACđ, Cemalettin; CANDAN, Ferda. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 100, n. 2, p. 526-534, jan. 2007. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.010.

KURTZMAN, Cletus P. et al. **The Yeast:** a taxonomic study. 5. ed. London: Elsevier, 2011. 539 p.

LAMBRECHTS, M.g.; PRETORIUS, I.s.. Yeast and its Importance to Wine Aroma - A Review. South African Journal Of Enology And Viticulture, South Africa, v. 21, p.97-129, 2000.

MATTIETTO, Rafaella de Andrade et al. **Tecnologia para Obtenção Artesanal de Hidromel do Tipo Doce**. Belém: Embrapa, 2006. 5 p. Disponível em: <a href="https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/43301/1/Com.tec.170.pdf">https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/43301/1/Com.tec.170.pdf</a>. Acesso em: 02 fev. 2022.

MIKI, Ângela; ALMEIRA, Carla; MACIEL, Eduardo; LOPES, Janete; LEITE, Jussara; AMARAL, Roberta; CORREIA, Roberta; SALOMÃO, Silvana; ALVES, Tereza Nelma. Apicultura. Boletim Setorial do Agronegócio. Recife, Maio de 2011.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. **Instrução Normativa Nº 11, de 20 de Outubro de 2000**. Brasília, DF, Brasil, 20 out. 2000. Disponível em: <a href="https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/IN11de2000.pdf">https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/IN11de2000.pdf</a>.

MORADO, Ronaldo. **Larousse da Cerveja**: A história e curiosidades de uma das bebidas mais populares do mundo. São Paulo: Alaúde Editorial, 2017. 440 p. Edição atualizada e ampliada.

MORAES, Luis Felipe de. **O guia do hidromel artesanal**. São Paulo: Livraria da Física, 2018. 236 p;

NELSON, David L.; COX, Michael M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 1298 p. 2014.

OLAITAN, P. B., ADELEKE, O. E., AND OLA, I. O. Honey: A reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. **Afr. Health Sci**. 7, 159–165, 2007.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA (FAO). Disponível em: <a href="https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL">https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL</a> . Acesso em: 25 jan. 2023.

PALMER, A. K.; RENNIE, H. Ester Control in High Gravity Brewing. **Journal Of The Institute Of Brewing**, [s.l.], v. 80, n. 5, p.447-454, 10 set. 1974. Wiley. http://dx.doi.org/10.1002/j.2050-0416.1974.tb06794.x.

PEREIRA, Ana Paula et al. Mead production: selection and characterization assays of saccharomyces cerevisiae strains. **Food Chem Toxicol.**, Bragança, v. 47, n. 8, p. 2057-2063, ago. 2009. Disponível em: <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19481129/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19481129/</a>. Acesso em: 25 jan. 2022. Elsevier. <a href="https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.05.028">https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.05.028</a>.

PISARNITSKII, A. F. Formation of Wine Aroma: Tones and Imperfections Caused by Minor Components (Review). **Applied Biochemistry And Microbiology**, [s.l.], v. 37, n. 6, p.552-560, 2001. Springer Nature. <a href="http://dx.doi.org/10.1023/a:1012390731145">http://dx.doi.org/10.1023/a:1012390731145</a>.

PRETORIUS, Isak S. Tailoring wine yeast for the new millennium:: novel approaches to the ancient art of winemaking. Yeast, Stellenbosch, v. 18, n. 8, p. 675-729, 07 jun. 2000. Disponível em: <a href="https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/1097-0061%2820000615%2916%3A8%3C675%3A%3AAID-YEA585%3E3.0.CO%3B2-B.">https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/1097-0061%2820000615%2916%3A8%3C675%3A%3AAID-YEA585%3E3.0.CO%3B2-B.</a>
Acesso em: 21 dez. 2022. Wiley Online Library. <a href="https://doi.org/10.1002/1097-0061(20000615)16:8<675::AID-YEA585>3.0.CO;2-B.">https://doi.org/10.1002/1097-0061(20000615)16:8<675::AID-YEA585>3.0.CO;2-B.</a>

QUEIROGA, Cízia Fabiana Mouta Almeida; LEITE FILHO, Franscisco Germano Leite; MACHADO, Antônio Vitor; COSTA, Rubenia de Oliveira. Cadeia produtiva de mel de abelhas: fonte alternativa de geração de renda para pequenos produtores e qualidade físico-química do mel. Revista brasileira de agrotecnologia. 5(1): 24-30. 2015

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.

RODRÍGUEZ, Graciela Ojeda de; FERRER, Betzabé Sulbarán de; FERRER, Alexis; RODRÍGUEZ, Belkis. Characterization of honey produced in Venezuela. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 84, n. 4, p. 499-502, mar. 2004. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146(02)00517-4">http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146(02)00517-4</a>.

SABBAG, Omar Jorge; NICODEMO, Daniel. VIABILIDADE ECONÔMICA PARA PRODUÇÃO DE MEL EM PROPRIEDADE FAMILIAR. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, [S.L.], v. 41, n. 1, p. 94-101, 19 jan. 2011. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.5216/pat.v41i1.10414.

SCHWARZ, Luisa Vivian *et al.* Selection of low nitrogen demand yeast strains and their impact on the physicochemical and volatile composition of mead. **Journal Of Food Science And Technology**, [S.L.], v. 57, n. 8, p. 2840-2851, 2 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <a href="http://dx.doi.org/10.1007/s13197-020-04316-6">http://dx.doi.org/10.1007/s13197-020-04316-6</a>.

SMITH, Francis G.. Beekeeping as a Forest Industry. **East African Agricultural And Forestry Journal**, [S.L.], v. 31, n. 3, p. 349-355, nov. 2015. Informa UK Limited. http://dx.doi.org/10.1080/00128325.1966.11662064.

SROKA, Paweł; TUSZYńSKI, Tadeusz. Changes in organic acid contents during mead wort fermentation. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 104, n. 3, p. 1250 1257, jan. 2007. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.046.

VENTURINI FILHO, Waldemar Gastroni *et al.* **Bebidas alcoólicas**: ciência e tecnologia. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2016. 576 p;

VERSTREPEN, Kevin J. et al. Flavor-active esters: Adding fruitiness to beer. **Journal Of Bioscience And Bioengineering**, [s.l.], v. 96, n. 2, p.110-118, jan. 2003. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/s1389-1723(03)90112-5">http://dx.doi.org/10.1016/s1389-1723(03)90112-5</a>.

VIANA, Fernando Luiz E. Indústria de Bebidas Alcóolicas. Caderno Setorial ETENE. 5 (117): 1-11. 2020

VIDAL. Maria de Fátima. Evolução da produção de mel na área de atuação do BNB. Caderno Setorial ETENE. 4(62): 1-7. 2019.

VIDAL. Maria de Fátima. Produção de mel na área de atuação do BNB entre 2011 e 2016. Caderno Setorial ETENE.3(30): 1-12. 2018.

VILA NOVA, Meiriana Xavier et al. Yeast species involved in artisanal cachaça fermentation in three stills with different technological levels in Pernambuco, Brazil. **Food Microbiology**, [s.l.], v. 26, n. 5, p.460-466, ago. 2009. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2009.02.005.

WHEALS, A. Fuel ethanol after 25 years. **Trends In Biotechnology**, [s.l.], v. 17, n. 12, p.482-487, 1 dez. 1999. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/s01677799(99)01384-0.

WHITE, Chris; ZAINASHEFF, Jamil. **Yeast:** the practical guide to beer fermentation. Colorado: Brewers Publications, 2010. 304 p.

WON, S.R., LEE, D.C., KO, S.H., KIM, J.W., RHEE, H.I., 2008. Honey major protein characterization and its application to adulteration detection. Food Research International, 41, 952-956.

#### APÊNDICE A – CAPÍTULO DE LIVRO PUBLICADO

DESAFIOS DA PRODUÇÃO DE HIDROMEL NO BRASIL: PROCESSAMENTO E LEGISLAÇÃO BRASILEIRA

## Bebidas Fermentadas e Destiladas: pesquisas e aplicabilidades

ISBN: 978-65-88884-19-5

Capítulo 02

# Desafios da produção de hidromel no Brasil: processamento e legislação brasileira

Rayssa Karla Silva <sup>a\*</sup>, Walter de Paula Pinto Neto <sup>a</sup>, Marcos Antonio de Morais Júnior <sup>a</sup> e Rafael Barros de Souza <sup>b</sup>.

- <sup>a</sup> Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, Recife, PE, 50.670-901, Brasil.
- <sup>b</sup> Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco. R. Arnóbio Marques, 310, Santo Amaro, Recife, PE, 50.100-130, Brasil.
- \*Autor correspondente: Rayssa Karla Silva, Bacharela em Engenharia Química, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, Recife, PE, 50.670-901, Brasil. 81 2126-7817; rayssa.karla@ufpe.br.

Data de submissão:18-05-2022 Data de aceite: 01-07-2022 Data de publicação: 20-08-2022





### **RESUMO**

Introdução: o hidromel é uma bebida que resulta da fermentação de uma solução de mel de abelha, com ou sem aditivos, utilizando leveduras já empregadas para a produção de vinho. O processo de produção é simples quando comparado a outras bebidas fermentadas e fermento-destiladas como cerveja, vinho e cachaça e a estrutura é semelhante a necessária na produção de cerveja. Sendo assim, a sua produção pode ser adaptada em microcervejarias, que passam por uma expansão de mercado. O processamento consiste na preparação do mosto, fermentação, descuba, maturação, acabamento, pasteurização e envase. Apesar de simples, a produção de hidromel enfrenta diversos problemas, como a falta de padronização da matéria-prima, fermentações muito longas, falta de uma linhagem de levedura adequada e entre outros. Contudo, com o recente aumento na procura por essa bebida, pesquisas para otimizar a produção vem sendo necessárias. Objetivo: integrar as informações acerca do processo produtivo de hidromel, mostrando as principais etapas empregadas atualmente no processo e seus principais desafios. Metodologia: o estudo baseou-se em uma revisão bibliográfica de caráter integrativo. Resultados: formas de otimização como uma melhor suplementação da solução de mel, a utilização de linhagens com baixas demandas nutricionais, além de ajustes nos parâmetros fermentativos estão sendo empregadas a fim de melhorar o desempenho fermentativo e, consequentemente, diminuir o tempo gasto na fermentação. Conclusão: são necessários mais estudos para definir um protocolo adequado de produção que leve em consideração as demandas nutricionais das linhagens e as limitações intrínsecas da matéria-prima, além de atualizações na legislação vigente.

Palavras-chave: História do hidromel; Legislação do hidromel; Hidromelaria.

#### 1 INTRODUÇÃO

A apicultura no Brasil representa uma atividade econômica bastante promissora por ter uma significativa produção de mel, principalmente nas regiões sudeste e nordeste, ocupando a décima segunda maior produção de mel no mundo. Em 2019, o volume de mel produzido no país foi de aproximadamente 46 mil toneladas, sendo a China o maior produtor com 121 mil toneladas. Além disso, a apicultura brasileira está inserida na maior diversidade biológica (Mata Atlântica, Pampa, Caatinga, Amazônia e Cerrado) do planeta, proporcionando qualidades sensoriais únicas (SOUZA *et al.*, 2016), no qual se reflete na sua grande valorização no mercado internacional e consequentemente torna o Brasil um importante exportador, aparecendo em quinto lugar no ranking (FAO, 2019).

Contudo, a necessidade de alternativas de escoamento dos produtos da apicultura torna-se cada vez mais urgente, uma vez que depender quase que exclusivamente da exportação possa implicar em perdas econômicas associadas a dificuldades burocráticas e instabilidade do mercado internacional (MILESKI, 2016; VENTURINI FILHO et al., 2016). Portanto, é fundamental destacar que além do mel, a apicultura gera importantes subprodutos como cera, própolis, pólen, geleia real e a apitoxina (EMBRAPA, 2018). Esses subprodutos possibilitam a diversificação e melhoria na renda dos apicultores, que na sua grande maioria são pequenos agricultores. Além disso, a diversificação de produtos a partir do mel e de seus subprodutos é de fundamental importância para a agregação de valor a apicultura de base familiar e consequentemente aumento na renda das famílias (MILESKI, 2016; VENTURINI FILHO *et al.*, 2016).

Nesse contexto, a produção de bebidas derivadas do mel, como o hidromel, pode indicar uma alternativa interessante para o escoamento da produção de mel. O hidromel é uma bebida alcoólica obtida pela fermentação de uma solução de mel de abelha, podendo haver ou não a suplementação de sais nutrientes, com graduação alcoólica entre 4 e 18% (v/v) a depender do país de origem (BRASIL, 1994; GUPTA; SHARMA, 2009). O hidromel é considerado a bebida mais antiga do mundo, com evidências que datam de 8.000 a.C. Os primórdios dessa produção devem ter ocorrido nos países africanos e, em seguida, tomado rumo para o mar Mediterrâneo, Europa e Ásia, estando presente na gênese das civilizações mais antigas (IGLESIAS et al., 2014). No Brasil, os hidroméis começaram a ser produzidos pelos povos indígenas antes mesmo da vinda dos colonizadores europeus ao continente. Os Tembés, uma tribo indígena historicamente localizada no nordeste da Amazônia, produzia uma bebida fermentada chamada tucanaíra a partir da água, mel de abelhas nativas e pólen coletados por essas abelhas, o saburá (VENTURINI FILHO et al., 2016). Por outro lado, os índios Kaingang também utilizavam o hidromel para misturar com uma segunda bebida, o goifá, resultando em um terceiro produto alcoólico, o quiquy (RIBEIRO, 1997 apud VENTURINI FILHO et al., p.36).

As etapas de produção do hidromel são relativamente simples quando comparado a outras bebidas. Além de um processo simples, a estrutura utilizada se assemelha muito com a necessária para produção de cerveja e outras bebidas fermentadas, podendo a produção do hidromel ser implementada em microcervejarias sem a necessidade de grandes alterações na planta das fábricas. O processo pode apresentar as seguintes etapas: preparação do mosto, fermentação, descuba, pode ou não ser maturado, clarificação, envase, pasteurização e comercialização (MATTIETTO et al., 2006).

Todavia, a bebida tem um painel sensorial complexo, por estar sujeita a influência da linhagem de levedura utilizada na fermentação, origem botânica do mel, região de produção, espécie de abelha e outros fatores que podem implicar em um painel com grande variedade de hidroméis (SROKA; TUSZYNSKI, 2007; PEREIRA et al., 2009). Essa complexidade sensorial tende a ser um gargalo de produção devido a padronização de produtos fermentados. Com a utilização de produtos naturais, a padronização da matriz de entrada no processo tende a ser uma etapa essencial, o que pode significar a oneração do produto, uma vez que o mel varia não apenas as características sensoriais, mas as características estéticas, como cor, que pode variar de um amarelo claro até um âmbar escuro para méis que tem a mesma origem regional (VENTURINI FILHO et al., 2016). Além disso, o tempo necessário para a fermentação e maturação do hidromel tendem a ser muito longos, levando semanas ou até mesmo meses para serem completados. Isso pode levar a problemas como contaminação bacteriana, alterando assim as propriedades organolépticas da bebida (SROKA; TUSZYNSKI, 2007; PEREIRA et al., 2009).

Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi integrar as informações acerca do processo produtivo de hidromel, mostrando as principais etapas empregadas atualmente no processo e seus principais desafios.

#### 2 METODOLOGIA

#### 2.1 Tipo de estudo

Para a realização do trabalho foi desenvolvida uma revisão integrativa com base em pesquisa bibliográfica, de abordagem qualitativa, com caráter exploratório conforme recomendado por Pereira *et al.* (2018).

#### 2.2 Coleta de dados

As pesquisas das fontes foram realizadas por meio de buscas bibliográficas de produções científicas em bancos de dados internacionais e nacionais, como American Society for Microbiology, Oxford University Press (OUP), Elsevier, MDPI Open Access Jounals, Wiley e Springer Nature, disponíveis na ferramenta do Google Acadêmico.

Relação das fontes bibliográficas utilizadas para fornecer respostas necessárias para o presente estudo:

Os artigos científicos da temática foram publicados nos últimos 50 anos (a partir de 1974). Foram utilizados 14 artigos no total, sendo todos internacionais, disponíveis online e com texto completo; Foram utilizados 4 livros, sendo 2 internacionais e 2 nacionais. Foram utilizadas 3 legislações (Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994; Decreto nº 6.871, de 04 de junho de 2009; Instrução Normativa nº 34, de 29 de novembro de 2012), disponibilizada no Diário Oficial da União; Foi utilizada 1 monografia internacional; Foi utilizada 1 tese de doutorado; Foram utilizados 2 relatórios técnico, sendo 1 da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) e outro do Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste (ETENE); Foram utilizados 2 sites, sendo 1 da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) e outro do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).

#### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A seguir vão ser descritos algumas características do processo da produção do hidromel, trazendo importantes características, definições e aspectos minuciosos de cada etapa.

#### 3.1 Definição e legislação brasileira

A partir do Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, o hidromel foi definido como sendo uma bebida alcoólica fermentada com "graduação alcoólica de quatro a quatorze por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida pela fermentação alcoólica de solução de mel de abelha, sais nutrientes e água potável" (BRASIL, 2009). Quaisquer outras derivações não previstas pela legislação brasileira não estão regulamentadas em território nacional e, por isso, não podem ser reconhecidas oficialmente como hidromel.

A Instrução Normativa (IN) nº 24, de 29 de novembro de 2012, também fornece uma complementação para os padrões de identidade e qualidade do hidromel (Tabela 1), além de restringir a utilização de açúcar (sacarose) durante o seu processamento (BRASIL, 2012).

#### 3.2 Aspectos gerais da produção de hidromel

Em termo de processo, a produção de hidromel ocorre de forma semelhante à produção de vinho e cerveja, apresentando etapas como preparação do mosto, fermentação, descuba, maturação, trasfega, acabamento (filtração ou decantação), pasteurização e envase (Figura 1) (MATTIETTO *et al.*, 2006).

#### 3.3 Preparação do mosto

Uma das etapas que antecede a fermentação é a preparação do mosto de mel que será

fermentado, que consiste na diluição do mel em água potável até atingir concentrações entre 20 e 30 °Bx (MATTIETTO *et al.*, 2006; GUPTA; SHARMA, 2009). Para o hidromel, diferente de outras bebidas, grande parte dos açúcares já estão disponíveis para assimilação pelas leveduras, não sendo necessário nenhum processamento para lise desses carboidratos, como é necessário na produção de cerveja.

Entretanto, o mel apresenta uma limitação na disponibilidade de nutrientes essenciais para o funcionamento adequado do metabolismo das leveduras como, por exemplo, fontes de nitrogênio e sais minerais. Sendo assim, a suplementação do mosto é recorrente em diversos países (Tabela 2) (GUPTA; SHARMA, 2009).

**Tabela 1:** Padrões de identidade e qualidade do hidromel segundo a Instrução Normativa N°24, de 29 de novembro de 2012.

Item	Parâmetro	Limite mínimo	Limite máximo	Classificação
1	Acidez fixa, em meq/L.	30	1	•
2	Acidez total, em meq/L.	50	130	-
3	Acidez volátil, em meq/L.	-	20	-
4	Anidrido sulfuroso total, em	-	0,35	-
	g/L.			
5	Cinzas, em g/L.	1,5	-	-
6	Cloretos totais, em g/L.	-	0,5	-
7	Extrato seco reduzido, em	7	-	-
	g/L.			
8	Graduação alcoólica, em %	4	14	-
	v/v a 20 ºC.			
9	Teor de açúcar em g/L.	-	≤3	seco
		>3	-	suave

Fonte: BRASIL, 2012.

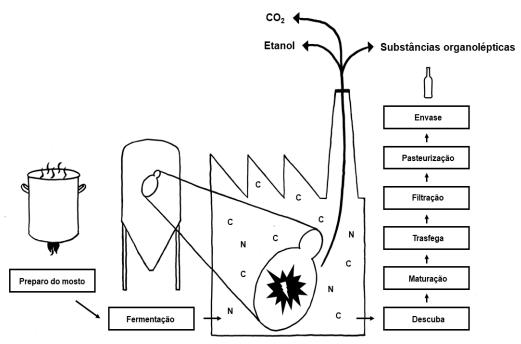
Uma possível fonte de suplementação para correção nutricional do mosto, sem a necessidade de utilizar aditivos comerciais, está em acrescentar pólen a fim de ofertar um maior teor de nutrientes como fontes de nitrogênio. A adição desse suplemento ao mosto pode fornecer mais proteínas, aminoácidos, lipídeos, sais minerais, vitaminas e carotenoides importantes ao metabolismo de síntese de compostos sensoriais da bebida durante o processo fermentativo (ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 2005; HUMAN; NICOLSON, 2006).

#### 3.4 Fermentação

Durante esse processo, os carboidratos são metabolizados pela levedura para produção majoritária de etanol e gás carbônico (NELSON; COX, 2014). Entretanto, parte

do carbono assimilado é utilizado para produção de novas células de leveduras, além da produção de glicerol e outros metabólitos importantes para o corpo sensorial da bebida (WHEALS *et al.*, 1999; ESPINOSA VIDAL, 2012). Para que haja a formação desses compostos são necessárias, além de fontes de carbonos, também as fontes de nitrogênio que são utilizados para a síntese de compostos organolépticos, como ácidos graxos, álcoois superiores e ésteres, que juntos impactam significativamente o perfil sensorial (Figura 2) (COOPER, 1982; VERSTREPEN *et al.*, 2003; HAZELWOOD *et al.*, 2008; VILA NOVA *et al.*, 2009).

Figura 1: Etapas do processamento de hidromel com destaque para a síntese de substâncias organolépticas a partir do metabolismo catabólico das fontes de carbono (C) e nitrogênio (N) pela levedura.



Fonte: Os autores.

Atualmente utilizam-se linhagens comerciais de *Saccharomyces cerevisiae* já empregadas para produção de vinho. Porém, mosto de uva e mosto de mel são matrizes que possuem composições químicas significativamente distintas, principalmente no teor de fontes de nitrogênio, onde o mosto de uva possui cerca de cem vezes mais que o mosto de mel e, portanto, linhagens de vinho nem sempre serão as mais adequadas para produção de hidromel (PEREIRA *et al.*, 2009).

Associada a falta de uma linhagem de levedura adequada, a deficiência nutricional da matriz, o estresse osmótico, o alto teor de etanol e outros fatores que comprometem o crescimento celular, o processo fermentativo tende a demorar semanas, até mesmo meses para ser completado. Isso pode levar a produção de *off-flavors*, além de uma maior possibilidade de contaminação microbiana (SROKA; TUSZYNSKI, 2007; PEREIRA et al., 2009).

Uma alternativa estudada para fermentação de soluções de mel é a utilização de leveduras com baixa exigência nutricional, mais precisamente as que necessitam de pouco nitrogênio, o que poderia ser benéfico (SCHWARZ et al., 2020). Todavia, os aspectos sensoriais podem ser prejudicados, uma vez que a síntese de compostos organolépticos é diretamente afetada pela relação carbono/nitrogênio e pela linhagem de levedura empregada, além de outros fatores (PALMER; RENNIE, 1974; PISARNITSKII, 2001; CARRAU *et al.*, 2008).

**Tabela 2:** Matérias-primas, aditivos e condições de fermentação usadas para o processamento de hidromel em diferentes países.

País	Preparação do mosto	Tempo (dias)	Levedura	T (°C)
Portugal	Suplemento 1: $Enovit @ e C_4H_6O_6$ $Suplemento 2: \\ NH_4H_2PO_4, KNaC_4H_4O_6.4H_2O, \\ MgSO_4.7H_2O, CaSO_4, SO_2, \\ C_4H_6O_6 e bentonita$	8-13	S. cerevisiae	27
Eslovênia	$(\mathrm{NH_4})_2\mathrm{SO_4},\ \mathrm{KH_2PO_4},\ \mathrm{MgCl_2},$ $\mathrm{C_6H_8O_7},\ \mathrm{NaH_2C_6H_5O_7},\ \mathrm{peptona},$ mio inositol e vitaminas $\mathrm{B_7},\ \mathrm{B_6},\ \mathrm{B_5}$ e $\mathrm{B_1}.$	-	S. bayanus linhagem R2 (Lalvin)	15
Eslováquia	Vitamon Ultra Salt®	-	S. cerevisiae C11-3	25-30
	Sem adição	60-90	Saccharomyces	15-22
Polônia	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> e C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	25-30	S. cerevisiae, Johannisberg- Riesling (JR)	20-22
Estados Unidos	Um análogo de mel (Frutose, glicose, maltose e sacarose) diluído em H <sub>2</sub> O e etanol	28-42	S. cerevisiae (LD Carlson)	22
Espanha	K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>5</sub> e pólen	-	S. cerevisiae, ENSIS-LE5®	25

Fonte: modificado de IGLESIAS et al., 2014.

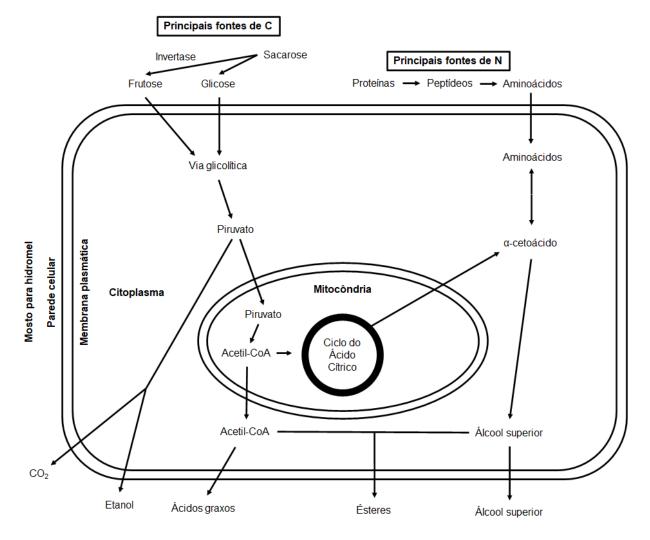
#### 3.5 Etapas pós-fermentação

Após a fermentação, há o processo de separação da biomassa do mosto fermentado, processo denominado descuba. Em seguida, a bebida pode ou não passar pelo processo de maturação, considerado importante para a estabilização do produto, principalmente em bebidas como vinho e cerveja e, geralmente, ocorre em temperaturas inferiores às de fermentação (VENTURINI FILHO *et al.*, 2016; MORADO, 2017).

Terminado o período de maturação, ocorrem os processos de acabamento da bebida, geralmente clarificação, que irá consistir na retirada de sólidos suspensos que comprometem o aspecto visual e sensorial. Para isso, existem basicamente duas formas de clarificar uma bebida: (i) por meio da utilização de filtros, como filtro de terra diatomácea e (ii) por meio da utilização de aditivos que auxiliarão na sedimentação das partículas suspensas como bentonita. Por fim, a bebida passa por um processo de pasteurização para prolongar a vida útil e segue para o envase e comercialização (PEREIRA *et al.*, 2009; MORADO, 2017).

Por fim, a comercialização de hidromel no Brasil está sujeita a alguns gargalos quanto ao processamento e legislação devidos, principalmente, ao pouco conhecimento no processamento da bebida pelos apicultores que a produzem como uma forma de renda complementar ao mel e que são os principais responsáveis pela produção no país. Além disso, essas produções informais sem registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) promovem déficit de dados estatísticos que impossibilitam a realização da prospecção de mercado.

**Figura 2:** Principais rotas metabólicas para formação de substâncias organolépticas em leveduras a partir das principais fontes de carbono (C) e nitrogênio (N) presentes no mosto de hidromel.



Fonte: Os autores.

#### 4 CONCLUSÃO

A retomada da produção de hidromel tanto no Brasil como no exterior tem-se mostrado cada vez mais presente, fazendo com que a bebida alcance lugar no mercado. No país, sua produção tem grande potencial devido à alta disponibilidade da principal matéria-prima: o mel considerado de qualidade. Além de ser uma forma eficaz de escoamento da produção de mel no país, que ainda depende muito da exportação, é uma forma de promover desenvolvimento social e econômico para os apicultores, principalmente para regiões onde outras práticas econômicas se tornam difíceis ou inviáveis, como em regiões interioranas do país.

A produção de hidromel vem despertando cada vez mais o interesse devido a simplicidade do processo e a estrutura semelhante já empregada na produção de outras bebidas fermentadas. Nesse contexto, o presente estudo explorou as principais etapas envolvidas na produção de hidromel, além de expor alguns desafios encontrados no processo, como o tempo de fermentação muito longo como consequência da escassez de linhagens de leveduras adequadas e a deficiência nutricional do mosto que possibilite o pleno funcionamento do metabolismo celular. Além disso, também há a falta de padronização do mel, uma vez que este pode ter características bem distintas dependendo da sua origem botânica e região e a falta de cultura de consumo associado ao produto.

Contudo, vale salientar que devido a disponibilidade de matéria-prima e o processo relativamente simples, a produção de hidromel pode ser uma alternativa interessante de escoamento do mel com maior valor agregado e para microcervejarias, que já possuem estrutura adequada para a produção da bebida. Todavia, são necessários mais estudos como forma de otimização de processo, a fim de reduzir perdas e diminuir o tempo de produção da bebida.

#### **AGRADECIMENTOS**

À Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo financiamento dos projetos "Desenvolvimento de bebidas de alto valor agregado a partir do mel proveniente da apicultura e meliponicultora do sertão de Pernambuco", no Edital FACEPE 12/2020 para o Apoio a Pesquisas para Arranjos Produtivos Locais (Processo APQ-0434-2.12/20) e "INOVAMEL: Prospecção do ambiente de negócio para inovação da apicultura do sertão do Pajeú", aprovado no Edital FACEPE 02/2022 para Credenciamento de Ambientes para Inovação em Pernambuco – Lócus de Inovação 2022 (Processo APQ-0161-9.26/22) e concessão de bolsas de estudos.

#### REFERÊNCIAS

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; PAMPLONA, Lucila C.; COIMBRA, Sílvia; BARTH, Ortrud Monika. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. **Journal** 

**of Food Composition And Analysis**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 105-111, fev. 2005. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2003.10.008">http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2003.10.008</a>

BRASIL. Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, autoriza a criação da Comissão Intersetorial de Bebidas e dá outras providências. **Lei Nº 8.918, de 14 de Julho de 1994**. Brasília, DF. Disponível em: <a href="https://www.planalto.gov.br/ccivil\_03/LEIS/L8918.htm">https://www.planalto.gov.br/ccivil\_03/LEIS/L8918.htm</a>. Acesso em: 14 jan. 2022

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 04 de junho 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. **Regulamento da Lei Nº 8.918, de 14 de Julho de 1994**. Brasília, DF. Disponível em: <a href="https://www.planalto.gov.br/ccivil\_03/\_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm">https://www.planalto.gov.br/ccivil\_03/\_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm</a>. Acesso em: 14 jan. 2022

BRASIL. Instrução Normativa nº 34, de 29 de novembro de 2012. Complementação dos padrões de identidade e qualidade para as seguintes bebidas fermentadas: fermentado de fruta, fermentado de fruta licoroso, fermentado de fruta composto, sidra, hidromel, fermentado de cana e saquê ou sake. **Instrução Normativa Nº 34, de 29 de Novembro de 2012**. Brasília, DF, 28 jul. 2017.

CARRAU, Francisco M. et al. Production of fermentation aroma compounds by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts: effects of yeast assimilable nitrogen on two model strains. **Fems Yeast Research**, [s.l.], v. 8, n. 7, p.1196-1207, nov. 2008. Oxford University Press (OUP). <a href="http://dx.doi.org/10.1111/j.1567-1364.2008.00412.x">http://dx.doi.org/10.1111/j.1567-1364.2008.00412.x</a>

COOPER, Terrance G. Nitrogen Metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. **Cold Spring Harbor Monograph Archive**, Pittsburgh, v. 11, n. 0, p.39-99,1982.

LUIS FERNANDO WOLF (ed.). **Sistema de produção de mel para a região sul do Rio Grande do Sul**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2018. 88 p. Disponível em: <a href="https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1104382/1/Sistema26web.pdf">https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1104382/1/Sistema26web.pdf</a>. Acesso em: 21 jul. 2022.

ESPINOSA VIDAL, Esteban. Influência da Fonte de Nitrogênio no Perfil Fermentativo, Transcriptômico, e na Produção de Álcoois Superiores em Saccharomyces cerevisiae. 2012. 87 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós graduação em Genética, Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012. Disponível em: <a href="https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/12285/1/Espinosa%20">https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/12285/1/Espinosa%20</a> Vidal%20Tese%20Doutoral.pdf. Acesso em: 02 fev. 2022.

GUPTA, J. K.; SHARMA, Rajesh. Production technology and quality characteristics of mead and fruit-honey wines: a review. **Natural Product Radiance**, Nauni Solan, v. 8, n. 4, p. 345-355, 18 jun. 2009. Disponível em: <a href="http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/5987/1/NPR%208%284%29%20345-355.pdf">http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/5987/1/NPR%208%284%29%20345-355.pdf</a>. Acesso em: 25 jan. 2022.

HAZELWOOD, L. A. *et al.* The Ehrlich Pathway for Fusel Alcohol Production: a Century of Research on *Saccharomyces cerevisiae* Metabolism. **Applied And Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 74, n. 8, p.2259-2266, 15 fev. 2008. American Society for Microbiology. <a href="http://dx.doi.org/10.1128/aem.02625-07">http://dx.doi.org/10.1128/aem.02625-07</a>.

HUMAN, Hannelie; NICOLSON, Sue W. Nutritional content of fresh, bee-collected and stored pollen of *Aloe greatheadii* var. *davyana* (Asphodelaceae). **Phytochemistry**, [S.L.], v. 67, n. 14, p. 1486-1492, jul. 2006. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.05.023">http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.05.023</a>.

IGLESIAS, Antonio; PASCOAL, Ananias; CHOUPINA, Altino Branco; CARVALHO, Carlos Alfredo; FEÁS, Xesús; ESTEVINHO, Leticia. Developments in the Fermentation Process and Quality Improvement Strategies for Mead Production. **Molecules**, [s. I], v. 19, n. 8, p. 12577-12590, 19 ago. 2014. MDPI Open Access Jounals. <a href="https://doi.org/10.3390/molecules190812577">https://doi.org/10.3390/molecules190812577</a>.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Disponível em: <a href="https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/74">https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/74</a> . Acesso em: 01 fev. 2022.

MATTIETTO, Rafaella de Andrade et al. **Tecnologia para Obtenção Artesanal de Hidromel do Tipo Doce**. Belém: Embrapa, 2006. 5 p. Disponível em: <a href="https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/43301/1/Com.tec.170.pdf">https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/43301/1/Com.tec.170.pdf</a>. Acesso em: 02 fev. 2022.

MILESKI, João Paulo Fernando. **Produção e caracterização de hidromel utilizando diferentes cepas de leveduras** *Saccharomyces*. 2016. 87 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2016. Disponível em: <a href="https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/1901/1/LD\_PPGTAL\_M\_Mileski%2C%20Jo%C3%A3o%20Paulo%20Fernando\_2016.pdf">https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/1901/1/LD\_PPGTAL\_M\_Mileski%2C%20Jo%C3%A3o%20Paulo%20Fernando\_2016.pdf</a>. Acesso em: 21 jul. 2022.

MORADO, Ronaldo. **Larousse da Cerveja**: A história e curiosidades de uma das bebidas mais populares do mundo. São Paulo: Alaúde Editorial, 2017. 440 p. Edição atualizada e ampliada;

NELSON, David L.; COX, Michael M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 1298 p. 2014.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA (FAO). Disponível em: <a href="https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL">https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL</a>. Acesso em: 25 jan. 2022.

PALMER, A. K.; RENNIE, H. Ester Control in High Gravity Brewing. **Journal Of The Institute Of Brewing**, [s.l.], v. 80, n. 5, p.447-454, 10 set. 1974. Wiley. <a href="http://dx.doi.org/10.1002/j.2050-0416.1974.tb06794.x">http://dx.doi.org/10.1002/j.2050-0416.1974.tb06794.x</a>.

PEREIRA, Ana Paula *et al.* Mead production: selection and characterization assays of *Saccharomyces cerevisiae* strains. **Food Chem Toxicol.**, Bragança, v. 47, n. 8, p. 2057-2063, ago. 2009. Elsevier. <a href="https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.05.028">https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.05.028</a>.

PEREIRA, A. S. *et al.* Metodologia da pesquisa científica. [e-book]. **Santa Maria**. Ed. UAB/ NTE/UFSM. 2018. Disponível em: <a href="https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic\_Computacao\_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1">https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic\_Computacao\_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1</a>. Acesso em: 22 de dezembro de 2021.

PISARNITSKII, A. F. Formation of Wine Aroma: Tones and Imperfections Caused by Minor Components (Review). **Applied Biochemistry And Microbiology**, [s.l.], v. 37, n. 6, p.552-560, 2001. Springer Nature. <a href="http://dx.doi.org/10.1023/a:1012390731145">http://dx.doi.org/10.1023/a:1012390731145</a>.

RIBEIRO, Berta Gleizer. Apresentação. In: **Suma etnológica brasileira**: Etnobiologia. 3. ed. Belém: Universidade Federal do Pará, 1997 *apud* VENTURINI FILHO, Waldemar Gastroni *et al.* **Bebidas alcoólicas**: ciência e tecnologia. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2016. 576 p.

SCHWARZ, Luisa Vivian *et al.* Selection of low nitrogen demand yeast strains and their impact on the physicochemical and volatile composition of mead. **Journal Of Food Science And Technology**, [S.L.], v. 57, n. 8, p. 2840-2851, 2 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <a href="http://dx.doi.org/10.1007/s13197-020-04316-6">http://dx.doi.org/10.1007/s13197-020-04316-6</a>.

SOUSA, Janaína Maria Batista de *et al.* Sugar profile, physicochemical and sensory aspects of monofloral honeys produced by different stingless bee species in Brazilian semi-arid region. **Food Science and Technology**, [S.L.], v. 65, p. 645-651, jan. 2016. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.058">http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.058</a>.

SROKA, Paweł; TUSZYńSKI, Tadeusz. Changes in organic acid contents during mead wort fermentation. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 104, n. 3, p. 1250 1257, jan. 2007. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.046">http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.046</a>.

VENTURINI FILHO, W. G. et al. **Bebidas alcoólicas**: ciência e tecnologia. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2016. 576.

VERSTREPEN, Kevin J. *et al.* Flavor-active esters: Adding fruitiness to beer. **Journal Of Bioscience And Bioengineering**, [s.l.], v. 96, n. 2, p.110-118, jan. 2003. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/s1389-1723(03)90112-5">http://dx.doi.org/10.1016/s1389-1723(03)90112-5</a>.

VILA NOVA, Meiriana Xavier *et al.* Yeast species involved in artisanal cachaça fermentation in three stills with different technological levels in Pernambuco, Brazil. **Food Microbiology**, [s.l.], v. 26, n. 5, p.460-466, ago. 2009. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2009.02.005">http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2009.02.005</a>

WHEALS, A. Fuel ethanol after 25 years. **Trends In Biotechnology**, [s.l.], v. 17, n. 12, p.482-487, 1 dez. 1999. Elsevier BV. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/s0167-7799(99)01384-0">http://dx.doi.org/10.1016/s0167-7799(99)01384-0</a>.