

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
UNIDADE ACADÊMICA CENTRO DE TECNOLOGIA  
CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA

MICHELLE SOUZA FERREIRA DE MORAIS

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROMEL**

Maceió  
2024

MICHELLE SOUZA FERREIRA DE MORAIS

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROMEL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia Química da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

Orientador/a: Prof. Dr. Carlos Eduardo de Farias Silva.

Coorientador/a: Ma. Josimayra Almeida Medeiros

Maceió  
2024

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

M827p Morais, Michelle Souza Ferreira de.  
Produção e caracterização de hidromel / Michelle Souza Ferreira de  
Morais – 2024.  
40 f. : il. color.

Orientador: Carlos Eduardo de Farias Silva.  
Coorientadora: Josimayra Almeida Medeiros.  
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Química)  
– Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia. Maceió, 2024.

Bibliografia: f. 35-40.

1. Hidromel. 2. Fermentação alcoólica. 3. Processo fermentativo. I.  
Título.

CDU: 663.393

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
UNIDADE ACADÊMICA CENTRO DE TECNOLOGIA  
CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA**

**MICHELLE SOUZA FERREIRA DE MORAIS**

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROMEL**

**BANCA EXAMINADORA**



Documento assinado digitalmente

**CARLOS EDUARDO DE FARIAS SILVA**

Data: 13/11/2024 06:27:37-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof. Dr. Carlos Eduardo de Farias Silva**



Documento assinado digitalmente

**DAYANA DE GUSMAO COELHO**

Data: 26/11/2024 11:31:28-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Profa. Dra. Dayana de Gusmão Coelho**



Documento assinado digitalmente

**LIVIA MARIA DE OLIVEIRA RIBEIRO**

Data: 13/11/2024 07:24:35-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Profa. Dra. Lívia Maria de Oliveira Ribeiro**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à minha família. Aos meus pais, Agda e José Maria, sinônimos de persistência e força para mim, que sempre me apoiaram e se dedicaram para a conclusão dessa etapa. Às minhas irmãs, Marina, Melissa e Janaina, pela força e pelo auxílio durante a graduação e durante a vida. Aos meus sobrinhos e, em especial ao Antonio, meu sobrinho e afilhado, por diversas vezes ter sido a minha referência de carinho e de paz.

Aos meus amigos, que compartilhei vários momentos durante a graduação. Em especial Alisson Vilela, Renatha Farias, Igor Gomes, Bruno Kelvin e Douglas Cavalcante.

À Josimayra Medeiros, por toda a paciência, cuidado e atenção comigo durante o desenvolvimento do trabalho, assim como, com todas as outras pessoas. Ao Professor Carlos Eduardo, pela orientação, pela paciência e pela dedicação ao curso.

## RESUMO

Diversos produtos podem ser obtidos através do mel, a partir de uma grande atividade econômica no Brasil, chamada de Apicultura. Dentre estes, tem-se o hidromel, que consiste em um produto obtido do processo de fermentação alcoólica, realizada pelo mel puro com a adição de água, levedura e nutrientes. O processo fermentativo de produção do hidromel pode ser influenciado por parâmetros como a cepa da levedura, a adição de certos nutrientes e o tipo de mel usado, por exemplo, que modificam a estabilidade da fermentação, bem como o tempo e qualidade do produto final. Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi avaliar o processo fermentativo de produção do hidromel através do uso das cepas *Saccharomyces cerevisiae* (Fleischmann) e *Saccharomyces bayanus* (Red Star Premier Blanc), em meios com e sem a suplementação de nitrogênio (concentração final de 300 mg L<sup>-1</sup>). Para isso, a produção dos hidromeis, consistiu em processos fermentativos descontínuos durante um período de 377 horas, que contaram com acompanhamento diário de parâmetros como a concentração de substrato, concentração de células e concentração de produto. Os resultados obtidos mostraram que a suplementação de nitrogênio proporcionou um processo fermentativo mais ágil para ambas as leveduras estudadas, reduzindo o período de fermentação, visto que os mostos sem suplementação permaneceram fermentando por um período superior a 377 horas, alcançando um período de 840 horas. Ao comparar a atuação das leveduras estudadas no meio suplementado, a *S. bayanus* apresentou uma maior resistência ao álcool, alcançando um menor °Brix final e por consequência, um maior consumo de açúcar e produção de álcool. Os hidromeis produzidos apresentaram 7,19% – 10,95% de teor de álcool, 3,19 meq L<sup>-1</sup> – 4,17 meq L<sup>-1</sup> para acidez volátil, 53,99 meq L<sup>-1</sup> - 71,66 meq L<sup>-1</sup> para acidez total, 50,80 meq L<sup>-1</sup> – 67,98 meq L<sup>-1</sup> para acidez fixa, e 20,68 – 62,31 g L<sup>-1</sup> para açúcares residuais, obedecendo aos padrões de qualidade exigidos. Sendo assim, o processo pode ser avaliado como eficiente, tendo em vista que os parâmetros estão de acordo com a Legislação Brasileira.

**Palavras-Chave:** processo fermentativo; bebida alcoólica; *Saccharomyces cerevisiae*; etanol.

## ABSTRACT

Several products can be obtained from honey, from a major economic activity in Brazil, called Apiculture. Among these, there is mead, which consists of a product obtained from the alcoholic fermentation process, carried out with pure honey with the addition of water, yeast and nutrients. The fermentation process of mead production can be influenced by parameters such as the yeast strain, the addition of certain nutrients and the type of honey used, for example, which modify the stability of the fermentation, as well as the time and quality of the final product. In this sense, the objective of this study was to evaluate the fermentation process of mead production through the use of the strains *Saccharomyces cerevisiae* (Fleischmann) and *Saccharomyces bayanus* (Red Star Premier Blanc), in media with and without nitrogen supplementation (final concentration of 300 mg L<sup>-1</sup>). For this purpose, the production of meads consisted of discontinuous fermentation processes over a period of 377 hours, which included daily monitoring of parameters such as substrate concentration, cell concentration and product concentration. The results obtained showed that nitrogen supplementation provided a more agile fermentation process for both yeasts studied, reducing the fermentation period, since the musts without supplementation remained fermenting for a period longer than 377 hours, reaching a period of 840 hours. When comparing the performance of the yeasts studied in the supplemented medium, *S. bayanus* showed greater resistance to alcohol, reaching a lower final °Brix and, consequently, greater sugar consumption and alcohol production. The meads produced presented 7.19%–10.95% alcohol content, 3.19 meqL<sup>-1</sup>–4.17 meq L<sup>-1</sup> for volatile acidity, 53.99 meq L<sup>-1</sup>–71.66 meq L<sup>-1</sup> for total acidity, 50.80 meqL<sup>-1</sup>–67.98 meq L<sup>-1</sup> for fixed acidity, and 20.68–62.31 g L<sup>-1</sup> for residual sugars, complying with the required quality standards. Therefore, the process can be evaluated as efficient, considering that the parameters are in accordance with Brazilian legislation.

**Keywords:** fermentation process; alcoholic beverage; *Saccharomyces cerevisiae*; ethanol.

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>9</b>
<b>2.1</b>	<b>Geral .....</b>	<b>9</b>
<b>2.2</b>	<b>Específicos.....</b>	<b>9</b>
<b>3.</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>10</b>
<b>3.1</b>	<b>Mel: valor nutricional e composição .....</b>	<b>10</b>
<b>3.2</b>	<b>Legislação brasileira – hidromel .....</b>	<b>11</b>
<b>3.3</b>	<b>Fermentado alcoólico: hidromel.....</b>	<b>111</b>
<b>3.4</b>	<b>Processo fermentativo.....</b>	<b>13</b>
<b>3.5</b>	<b>Fatores que podem influenciar no processo de fermentação alcoólica .....</b>	<b>144</b>
<b>4.</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>166</b>
<b>4.1</b>	<b>Mel .....</b>	<b>166</b>
<b>4.2</b>	<b>Cepas de levedura.....</b>	<b>166</b>
<b>4.3</b>	<b>Preparação do inóculo.....</b>	<b>177</b>
<b>4.4</b>	<b>Elaboração do fermentado alcoólico.....</b>	<b>177</b>
<b>4.5</b>	<b>Fermentação alcoólica .....</b>	<b>18</b>
<b>4.6</b>	<b>Caracterização físico-química.....</b>	<b>188</b>
4.6.1	Determinação do teor de sólidos solúveis totais ( <sup>o</sup> Brix) e do pH.....	19
4.6.2	Determinação de resíduo por incineração – teor de cinzas.....	19
4.6.3	Determinação da acidez volátil .....	19
4.6.4	Determinação da acidez total .....	20
4.6.5	Determinação de açúcares totais .....	20
4.6.6	Determinação de teor alcoólico.....	21
<b>4.7</b>	<b>Acompanhamento do crescimento celular .....</b>	<b>211</b>
4.7.1	Contagem de leveduras.....	21
4.7.2	Determinação de peso seco celular .....	22
4.7.3	Taxa de crescimento celular.....	22
<b>4.8</b>	<b>Acompanhamento cinética de fermentação .....</b>	<b>222</b>
4.8.1	Rendimento e eficiência de fermentação .....	22
4.8.2	Taxa de geração de produto .....	23
4.8.3	Taxa de consumo de substrato .....	23
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>244</b>
<b>5.1</b>	<b>Acompanhamento do processo fermentativo.....</b>	<b>24</b>
<b>5.2</b>	<b>Acompanhamento cinético do processo fermentativo .....</b>	<b>26</b>
<b>5.3</b>	<b>Caracterização do hidromel.....</b>	<b>30</b>
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>33</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>34</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A apicultura é uma importante atividade econômica do mundo, além de ser muito antiga, possui como produto principal o mel, que apresenta um alto valor nutritivo e é um alimento natural. No Brasil, de modo especial no Nordeste, é bastante propício ao ótimo desempenho da apicultura, devido a sua grande extensão territorial, vasta diversidade florística e pela possibilidade de produção durante o ano todo. A atividade é geralmente praticada pelo pequeno produtor rural ou pelo agricultor familiar (Wiese, 2005; Barbosa et al., 2007; Khan, 2014).

Diversos produtos podem ser obtidos através do mel, dentre esses existem alguns fermentados alcoólicos, como por exemplo o hidromel, também conhecido como 'vinho de mel'. O hidromel é uma bebida com um teor alcoólico que pode variar entre 4-14%, sendo resultante da fermentação de mel diluído em água, e pode ser classificado em seco, semi-doce e doce (Gomes, 2010). A produção de hidromel está relacionada a uma alternativa dos produtores de agregar valor e ampliar os lucros, sendo produzido de forma artesanal e em uma escala reduzida.

Para o desenvolvimento do hidromel são realizados processos fermentativos, sendo necessário ter conhecimentos sobre cinética de fermentação, as conversões que ocorrem durante o processo, a necessidade de avaliação do crescimento celular, além do consumo de substrato e da geração de produtos. Para o processo fermentativo, se faz necessário o uso de uma levedura, sendo a *Saccharomyces cerevisiae*, a principal levedura responsável pela fermentação alcoólica, produz compostos que promovem a saúde e tem sido pouco investigada (Margaoan, 2020).

Além disso, apresenta um ótimo custo benefício, quando comparada com *Saccharomyces bayanus*, apresentando ainda uma alta capacidade de fermentação. (Knauf; Kraus, 2006; Lima; Basso; Amorim, 2001). No entanto, a cepa *Saccharomyces bayanus*, é mais utilizada para a produção de hidromel, por possuir uma alta tolerância ao álcool Patelski (2024).

Diversos trabalhos estão presentes na literatura sobre as condições de fermentação na produção de hidromel sendo os principais parâmetros avaliados; a temperatura e o pH do processo fermentativo, tipo de cepa microbiana utilizada, tipo de mel aplicado para a preparação do mosto, os nutrientes suplementados seja o tipo quanto sua concentração, sendo os sais contendo nitrogênio, magnésio, fósforo e enxofre os mais utilizados, assim como a contaminação microbiana durante o processo que além de diminuir a eficiência do processo, também geram subprodutos indesejáveis tornando o hidromel impróprio para consumo (Góes-Favoni et al., 2018; Queiroz, 2014; Basso et al., 1996; Daré, 2008; Lopes e Parazzi, 2007; Naves et al., 2010).

Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi produzir um fermentado alcoólico, através de processo fermentativo utilizando diferentes cepas de *Saccharomyces* e com/sem suplementação de nutrientes, caracterizando-o físico-quimicamente ao final do processo e obtendo seu perfil cinético, além de avaliar o produto de acordo com a legislação brasileira.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Avaliar o processo de fermentação alcoólica e caracterizar físico-quimicamente o hidromel produzido.

### 2.2 Específicos

- Avaliar a cinética do processo fermentativo em termos da concentração de açúcares, etanol e inóculo;
- Verificar a influência do tipo de cepa de *Saccharomyces* e da suplementação de nutrientes ao início do processo fermentativo;
- Comparar as características finais do hidromel com o exigido pela legislação.

### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Mel: valor nutricional e composição**

O mel é uma substância viscosa, aromática e açucarada, adquirida a partir do néctar das flores, através das abelhas melíferas. Essa substância apresenta algumas características sensoriais, como aroma, paladar, coloração, viscosidade e propriedades medicinais, que estão diretamente conexas com a fonte de néctar, a qual o ocasionou a sua formação e também com a espécie de abelha que o produziu (Zanin, 2019).

Devido ao seu alto teor de açúcar, o mel é usado como conservante de alimentos, sendo também uma excelente opção nutricional devido aos seus benefícios demonstrados para a saúde a nível do efeito bactericida, antisséptico, antirreumático, diurético, digestivo, prevenção de gripes e constipações. (Gomes, 2010).

A composição do mel está relacionada com diferentes fontes florais, espécies de abelhas, condições climáticas e ambientais, bem como o tipo de processamento do produto. Os méis podem ser classificados em relação a sua origem como, méis florais ou méis de melato. Os florais, mais abundantes, são oriundos de néctares de flores, e são classificados em monofloral, quando oriundos de uma única flor, ou multifloral ou silvestre, quando o néctar é oriundo de diferentes origens florais (Brasil, 2000). Por outro lado, os méis de melato são provenientes, principalmente, das secreções das partes vivas das plantas ou das excreções dos insetos sugadores de plantas que se encontram sobre elas (Campos et al., 2003).

O mel possui características de coloração que são provenientes das flores, variam de aproximadamente incolor até marrom escuro, possuindo um sabor (características que podem ir do doce suave ao doce forte, e até mesmo exibir sabor ácido ou amargo) e aroma que variam dependendo da sua origem, e também, podendo ser um fluido viscoso ou sólido (Azevedo, 2019).

A crescente valorização dos produtos apícolas pelos consumidores impulsionou a produção de mel, promovendo o desenvolvimento econômico da indústria apícola (Ramalhosa et al., 2011). Tal valorização contribuiu também para o desenvolvimento de produtos derivados do mel, como o hidromel, especialmente utilizando mel impróprio para comercialização, é importante para fornecer bebidas alcoólicas inovadoras aos consumidores e para aumentar os lucros dos apicultores.

### 3.2 Legislação brasileira – hidromel

De acordo com a legislação brasileira, o hidromel é estabelecido como uma bebida com teor alcoólico de 4 a 14% em volume, a 20°C, gerada pela fermentação alcoólica de uma diluição de mel de abelha, sais minerais e água potável (Brasil, 2009).

Através da Instrução Normativa n. 34 de 29 novembro de 2012, os parâmetros legais para o hidromel são estabelecidos (**Tabela 1**) e, ainda assim, vale salientar que o uso de açúcar (sacarose) não é permitido para a elaboração da bebida (Brasil, 2012). Dentre estes parâmetros, são relacionados a acidez fixa, acidez total, acidez volátil, cinzas, graduação alcoólica e o teor de açúcar.

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

**Tabela 1** – Padrões de identidade e qualidade para o hidromel.

Parâmetros	Limite Máximo	Limite Mínimo	Classificação
Acidez fixa (meqL <sup>-1</sup> )	30	-	-
Acidez total (meqL <sup>-1</sup> )	50	130	-
Acidez volátil (meqL <sup>-1</sup> )	-	20	-
Cinzas (g L <sup>-1</sup> )	1,5	-	-
Graduação alcoólica (%)	4	14	-
Teor de açúcar (g L <sup>-1</sup> )	-	≤ 3	Seco
	> 3	-	Suave

Fonte: Instrução normativa n° 34, de 29 de novembro de 2012.

Ainda segundo a Legislação Brasileira, de acordo com o art. 48 do Decreto n° 6.871/2009, o Hidromel deve ser elaborado pela fermentação alcoólica de solução de mel de abelha, sais nutrientes e água potável (Brasil, 2009). Através do art. 5°, parágrafo único, da I.N. Mapa n° 34/2012, é vedada a adição de qualquer substância ou ingrediente que altere as características sensoriais naturais do produto final (Brasil, 2012).

### 3.3 Fermentado alcoólico: hidromel

Produtos fermentados à base de mel, como o hidromel, são largamente conhecidos e consumidos na Europa. Porém, no Brasil, produtos com esta característica ainda são pouco

populares, talvez pela falta de conhecimento e/ou estudos tecnológicos para sua obtenção (Mattietto et al., 2006).

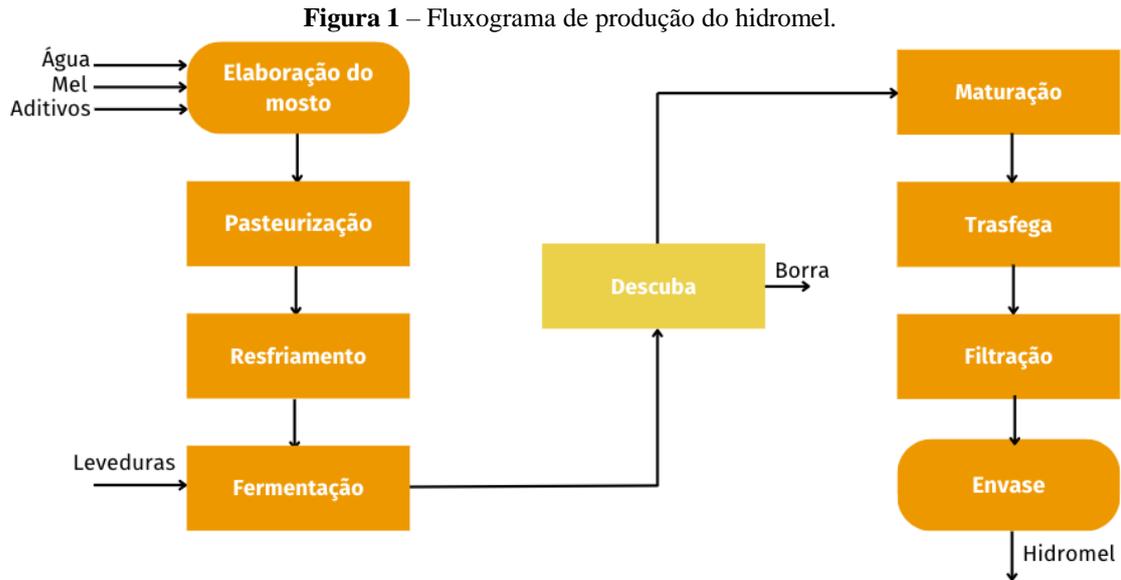
O hidromel é composto basicamente de quatro ingredientes, sendo eles o mel, água, leveduras e aditivos, porém existem variações da bebida em que são adicionados ingredientes extras para flavorização do mesmo, tais como frutas ou sucos de frutas, especiarias e temperos como baunilha, manjeriço, pimenta, canela, lúpulo, malte, que podem ser adicionadas diretamente em

qualquer etapa do processo de fabricação. A depender desses ingredientes, a bebida passa a ter nomes específicos (Gupta e Sharma, 2009). Pode ser classificado como seco, licoroso, doce e espumoso, de acordo com o tempo de fermentação, quantidade e qualidade do mel utilizado na diluição, escolha da levedura e da graduação alcoólica (Mileski, 2016).

Embora o mel seja considerado a matéria-prima principal para a obtenção do hidromel, influenciando diretamente nas características físico-químicas e sensoriais do produto (Ramalhosa et al., 2011), os microrganismos que serão adicionados devem ser selecionados cuidadosamente, pois afetam diretamente na eficiência da conversão de açúcar em etanol.

Na elaboração do hidromel, as proporções de diluição (mel:água) mais comuns são 1:0,5; 1:1; 1:2; 1:3. As concentrações (1:0,5 e 1:1) com maiores quantidades de açúcar podem acarretar a inibição do levedo alcoólico, em consequência da pressão osmótica excedente, sendo assim, é preciso fracionar a quantidade de mel ao longo do processo fermentativo (Batista, 2017).

Na produção do hidromel, o mel é geralmente fermentado com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, o microrganismo mais importante na fermentação alcoólica, devido à sua alta capacidade de fermentação, alta tolerância ao etanol e outros inibidores formados durante o pré-tratamento das matérias-primas e durante a fermentação, e sua rápida capacidade de fermentar sob condições anaeróbicas (Fluxograma pode ser visualizado na **Figura 1**) (Knauf; Kraus, 2006; Lima; Basso; Amorim, 2001).



Fonte: Adaptado Gupta e Sharma, 2009.

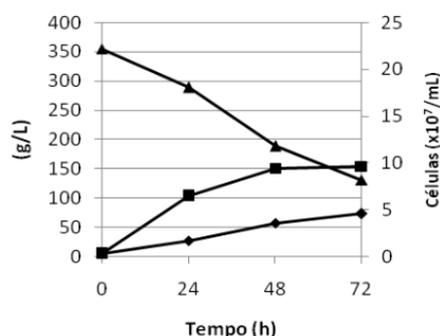
### 3.4 Processo fermentativo

Na fermentação de bebidas e alimentos, as formas de operação mais utilizadas são batelada e batelada alimentada, por proporcionarem maior segurança quanto à manutenção e assepsia, maior controle em relação à estabilidade genética do microrganismo, menor risco de contaminação e pela simplicidade do processo (Carvalho e Sato, 2001).

No processo de fermentação descontínua ou batelada, o inóculo e o mosto são adicionados na dorna, no início da fermentação e, depois de fermentado, esse mosto é encaminhado para serem realizados os procedimentos de recuperação do produto, através de operações unitárias.

Durante o processo fermentativo determinados parâmetros são acompanhados, para avaliar o desempenho da cinética da fermentação alcoólica, dentre eles, a variação de concentração do substrato (S), a variação da concentração das células (X) e a variação da concentração de produto (P), todas essas variando com o tempo de fermentação. Com desses dados, obtidos através de experimentos, pode-se traçar as curvas de ajuste que descrevem tais parâmetros, sendo possível determinar as velocidades médias de transformação, em um período de tempo ( $\Delta t$ ) (Gretschmann, 2009).

**Figura 2** – Perfil cinético da produção de hidromel com cepa *Saccharomyces bayanus*, sem suplementação de nitrogênio, analisando: -▲- concentração de substrato (açúcar), -■- concentração de células e -◆- concentração de produto (etanol).



Fonte: Ferraz, 2015.

Através da **Figura 2**, Ferraz (2015) conseguiu analisar o crescimento das células da cepa *Saccharomyces bayanus*, no período de tempo de 72 horas, relacionando com o consumo de substrato (açúcar) que diminui com o tempo, tendo em vista que está havendo a formação do produto (etanol). A cinética de biotransformação está relacionada com a velocidade de consumo de substrato e de aparecimento de produto e, no caso mais específico, de processos de fermentação utilizando leveduras, também com a velocidade de crescimento celular e o efeito que estas sofrem

por influência das condições do meio em processo (Andrietta, 2007).

Cada condição de trabalho, pode levar a diferentes perfis de concentração de substrato, células e produtos, portanto diferentes perfis cinéticos podem ser obtidos e a partir disso, pode-se obter a modelagem e acompanhamento (De Paula et. Al., 2012). Esse acompanhamento é de suma importância para avaliar se o processo fermentativo está evoluindo como o esperado.

### 3.5 Fatores que podem influenciar no processo de fermentação alcoólica

O monitoramento da temperatura é um dos fatores mais relevantes ao processo de fermentação alcoólica, visto que para a produção de biomassa a temperatura adequada encontra-se entre 25°C a 30°C. Assim, definindo como microrganismos mesófilos, ao mesmo tempo em que para a produção alcoólica as temperaturas ideais estão em temperaturas mais extensas entre 26°C a 35o C (Góes-Favoni et al., 2018).

Em relação ao pH grande parte das leveduras empregadas em processos fermentativos possui resistência a baixos níveis de pH, uma vez que o pH predominante em fermentações varia entre 4 a 5,5. Experimentos confirmam que quanto mais ácido for o mosto, maior será a produtividade, uma vez que bactérias e outros contaminantes não permanecem em meios de

baixo pH (cerca de 3 a 4) e a geração de glicerol como componente completar da fermentação é muito reduzida em meios ácidos (pH 3 a 4) (Queiroz, 2014).

As leveduras exigem diversos íons inorgânicos (minerais) em concentrações tanto micro como milimolar para manifestarem ótimos crescimentos e rendimento fermentativo. Deficiências ou concentrações elevadas de tais minerais, ou seja, um desequilíbrio entre os nutrientes minerais provoca alterações metabólicas significativas (Basso *et al.*, 1996).

Nutrientes específicos, como nitrogênio, minerais ou vitaminas, são necessários para obter a fermentação rápida em níveis elevados (Alfenore, 2002). Os minerais magnésio, cálcio e zinco influenciam na taxa de conversão do açúcar e são necessários como cofatores para diversas vias metabólicas (Pereira, 2010).

O rendimento pode sofrer interferências a partir da concentração de substrato, que está associada a concentração de açúcares no mosto, desde o início da fermentação. O aumento da concentração de açúcares causa o aumento da produção de etanol, tornando a fermentação lenta. Já no caso de baixa concentração de açúcares, ocorreram baixos rendimentos na produção do álcool (Schmidell e Facciotti, 2001).

Outro fator a ser avaliado, é a contaminação microbiana. Os microrganismos contaminantes podem se desenvolver nas dornas de fermentação dependendo das condições de operação. Esses demais microrganismos competem com a levedura, causando aumento na acidez, gerando subprodutos que inibem crescimento, entre outros efeitos nocivos ao processo fermentativo (Daré, 2008; Lopes e Parazzi, 2007; Naves *et al.*, 2010).

Segundo Aravéchia (2013), um bom monitoramento dos parâmetros durante o processo fermentativo contribui muito para a eficiência de todo o processo, através de análises como: sólidos solúveis totais, pH, temperatura e açúcares residuais.

## 4. METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Bebidas e Alimentos (LTBA), que está localizado no Centro de Tecnologia (CTEC) na Universidade Federal de Alagoas. Na **Figura 3**, está o fluxograma representando as etapas realizadas para o desenvolvimento do trabalho.

**Figura 3** – Etapas realizadas no trabalho.



**Fonte:** Autora, 2024.

### 4.1 Mel

O mel utilizado foi oriundo da região Nordeste, do estado de Alagoas, da empresa O Cortiço. Este mel é caracterizado como mel florada silvestre, sendo este multifloral e possui as características físico-químicas descritas a seguir.

Para a caracterização físico-química do Mel Puro O Cortiço, os resultados foram disponibilizados pela empresa, apresentando os valores seguintes: 18,73 mEq kg<sup>-1</sup> para acidez total, 73,68 g 100g<sup>-1</sup> para açúcares redutores em glicose, menos que 0,02 m m<sup>-1</sup> para cinzas e menos que 0,230 g 100g para sacarose.

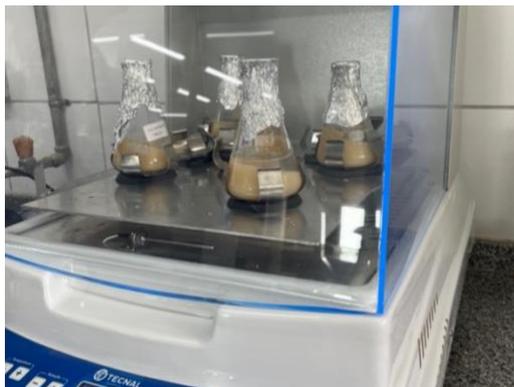
### 4.2 Cepas de levedura

Foram selecionadas duas leveduras comerciais para a produção do fermentado alcoólico, sendo estas a levedura *Saccharomyces cerevisiae* de marca Fleischmann, pelo preço acessível e a levedura *Saccharomyces bayanus*, de marca *Red Star*, do tipo *Premier Blanc*, que tem como característica uma alta tolerância ao álcool, como afirma Patelski (2024), além de largamente utilizada na produção de hidromel.

### 4.3 Preparação do inóculo

Os inóculos foram ativados na proporção de 37g de mel:100 mL de água esterilizada: 1.5g de levedura liofilizada e foram agitados em shaker (Tecnal), Figura 4, por 24 horas a 120 rpm e temperatura ambiente. Todas as vidrarias utilizadas foram autoclavadas a 121 °C por 15 minutos.

**Figura 4** - Agitação do inóculo em shaker.



Fonte: Autora, 2024.

### 4.4 Elaboração do fermentado alcoólico

A produção de hidromel foi realizada utilizando diferentes parâmetros, sendo preparados 1.5 L de cada fermentado. Estes parâmetros foram diferenciados pelo tipo de levedura e pela presença de suplementação, conforme simplificado no Quadro 1.

**Quadro 1** – Composição dos fermentados alcoólicos.

<b>FERMENTADO</b>	<b>LEVEDURA</b>	<b>SUPLEMENTAÇÃO</b>
1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Sem suplementação
2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Com suplementação
3	<i>Saccharomyces bayanus</i>	Sem suplementação
4	<i>Saccharomyces bayanus</i>	Com suplementação

Fonte: Autora, 2024.

Para isso, o mosto foi preparado em 4 erlenmeyers de 2L (**Figura 5**), utilizados como fermentadores, a partir da diluição do mel a uma concentração de 33% (p/v) (465g de mel: 1.400mL) e pH de 3,7. Dois mostos, foram suplementados com nitrogênio, na forma de fosfato de amônio dibásico através da inserção de 17,3 mL de uma solução de 10 g L<sup>-1</sup>, para que a concentração de nitrogênio do mosto ficasse em 300 mg L<sup>-1</sup> (inicialmente a 207 mg L<sup>-1</sup>), a qual

foi apontada como ótima por Pereira et al. (2014), e conseqüentemente, uma quantidade de fósforo, também importante para o processo fermentativo, foi também disponibilizada. Todas as vidrarias, assim como a água utilizada para diluir o mel, foram autoclavadas a 121 °C por 15 minutos, para eliminar todos os possíveis microrganismos presentes.

Após as devidas diluições e suplementações, os 4 mostos, em seus respectivos fermentadores, foram pasteurizados em banho maria a 60 °C por 30 minutos e resfriados, quando se alcançou a temperatura ambiente (30-34°C) os inóculos foram vertidos aos fermentadores e misturados, de forma imediata houve a medição dos parâmetros de pH, °Brix, peso dos fermentadores e a concentração celular no meio.

**Figura 5** – Mosto de mel para fermentação alcoólica.



**Fonte:** Autora, 2024.

#### **4.5 Fermentação alcoólica**

O processo de fermentação foi realizado em temperatura ambiente (30-34°C) e de maneira descontínua até que a estabilização do °Brix indicasse sua finalização resultando, assim, em período de 377 horas. Durante todo o processo houve acompanhamento diário de peso dos fermentadores, pH e °Brix, além da coleta de amostras para a realização das análises físico-químicas e da contagem celular a cada 48 horas.

#### **4.6 Caracterização físico-química**

Durante o período de fermentação, recolheu-se 50 mL dos mostos fermentados e essas amostras foram submetidas a um processo de centrifugação a 3500 rpm por 30 minutos, sendo o sobrenadante (mosto fermentado) armazenado sob congelamento, para a realização das análises posteriores, e a biomassa restante seguiu para a determinação de peso seco celular.

#### 4.6.1 Determinação do teor de sólidos solúveis totais ( $^{\circ}$ Brix) e do pH

O  $^{\circ}$ Brix foi determinado através de um refratômetro portátil. A determinação do pH foi realizada com o auxílio do pHmetro digital. Ambas as metodologias descritas pelo IAL (2008).

#### 4.6.2 Determinação de resíduo por incineração – teor de cinzas

A determinação do resíduo por incineração (cinzas) foi realizada utilizando a mufla, seguindo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (IAL 018/IV). A análise consiste na incineração de 3ml do resíduo a 550  $^{\circ}$ C por 4 horas, em cadinhos identificados e previamente aquecidos em mufla a 550  $^{\circ}$ C por 30 minutos. Obtendo-se então as cinzas, podendo estas serem brancas ou acinzentadas.

Ao final, esses cadinhos foram resfriados no dessecador por 30 minutos e pesado. O cálculo de percentual de cinzas pode ser realizado através da **Equação 11**:

$$Cinzas (g.L^{-1}) = \frac{1000*N}{V} \quad (11)$$

Sendo: N = massa de cinzas (massa final da amostra subtraída da tara do cadinho) em g e V = volume da amostra em mL.

#### 4.6.3 Determinação da acidez volátil

A acidez volátil foi realizada através da evaporação da amostra que, segundo a metodologia IAL (238/IV), é composta por 10 mL de amostra e 100 mL de água destilada, em frasco erlenmeyer de 250 mL, evaporada em banho maria até a metade do volume. Depois, deixou-se esfriar e adicionou-se 2 gotas de fenolftaleína, para realizar a titulação com hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1N, até obter a coloração rósea. O cálculo para obtenção dos ácidos voláteis pode ser realizado através da **Equação 12**:

$$\text{Ácidos voláteis} \left( \frac{meq}{L} \right) = \frac{n*N*f*1000}{V} \quad (12)$$

Sendo n = volume gasto na titulação da solução de NaOH, em mL; N = normalidade da solução de NaOH; f = fator de correção da solução de NaOH e V = volume total de amostra, em mL.

#### 4.6.4 Determinação da acidez total

A acidez total é baseada na titulação de neutralização de ácidos, segundo a metodologia IAL (238/IV), é composta por 2 mL de amostra e 50 mL de água destilada, em frasco erlenmeyer de 250 mL. Adicionou-se 2 gotas de fenolftaleína, para realizar a titulação com hidróxido de sódio (NaOH) 0,01N, até obter a coloração rósea. O cálculo para obtenção dos ácidos totais pode ser realizado através da **Equação 13**:

$$\text{Ácidos totais } \left(\frac{meq}{L}\right) = \frac{n * N * f * 1000}{V} \quad (13)$$

Sendo n = volume gasto na titulação da solução de NaOH, em mL; N = normalidade da solução de NaOH; f = fator de correção da solução de NaOH e V = volume total de amostra, em mL.

#### 4.6.5 Determinação de açúcares totais

Os açúcares totais foram determinados pelo método espectrofotométrico, adaptado de Trevelyan e Hanrisson (1952), utilizando o reagente antrona e comprimento de 625nm para medição da absorbância. Para a preparação do reagente antrona, são utilizados 36 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 14 mL de água destilada e 0,1g de antrona, totalizando numa solução de 50 mL, com 1g/L de antrona.

Em tubos de ensaio foram adicionadas 0,2 ml das amostras, diluídas a quantidade de vezes o quanto necessário e 1,8 ml do reagente antrona, que foram levados ao banho fervente por 10 minutos. Para a realização da curva padrão de glicose, foi preparada a solução de glicose 0,3 g L<sup>-1</sup> (solução mãe) e através de diluição, foram preparadas soluções de diferentes concentrações (0,03-0,3 g L<sup>-1</sup>).

A concentração de açúcares foi quantificada utilizando a curva padrão com concentrações conhecidas de glicose, através da **Equação 14**.

$$A_{600nm} = 0,3676 * [\text{açúcares totais}] * D \quad (14)$$

Sendo D = diluição utilizada na amostra. [açúcares totais] é a concentração de açúcares totais a ser encontrada com a absorbância medida. O coeficiente de correlação, r<sup>2</sup>, observado para esta correlação linear foi igual a 1.

#### 4.6.6 Determinação de teor alcoólico

Para a determinação de teor alcoólico, segundo Abud (1997), 10 mL das amostras foram destiladas em um micro destilador de álcool e, após a primeira gota, foram marcados 4 minutos. O álcool destilado foi adicionado a um balão volumétrico de 100 mL e completado com água destilada. Em tubos de ensaio com tampa rosqueável, foram adicionados 2 mL do destilado diluído e 2 mL de dicromato de potássio, os tubos foram fechados e colocados em banho a 60 °C por 30 minutos. Após isso, os tubos foram resfriados até a temperatura ambiente.

Para a obtenção da curva padrão foi utilizado o método espectrofotométrico, proposto por JOSLYN (1970), realizando primeiramente a leitura de água destilada no lugar da amostra destilada, a 600 nm, para zerar o aparelho (branco). Após isso, as amostras foram lidas no espectrofotômetro, de acordo com suas concentrações, de 20, 40, 60 e 80 g/L, para coletar as absorbâncias e obter a curva padrão de etanol. A concentração de etanol foi quantificada utilizando a curva padrão com concentrações conhecidas de etanol, através da **Equação 15**.

$$A_{600\text{nm}} = 50,554 * [\text{etanol}] * D \quad (15)$$

Sendo D = diluição utilizada na amostra. [etanol] é a concentração de etanol a ser encontrada com a absorbância medida. O coeficiente de correlação,  $r^2$ , observado para esta correlação linear foi igual a 0,9984.

### 4.7 Acompanhamento do crescimento celular

#### 4.7.1 Contagem de leveduras

Para a contagem de leveduras, as amostras de hidromel foram diluídas em azul de metileno, para que fosse possível realizar a contagem de células mortas, além das células vivas. Essa contagem foi realizada com auxílio de câmara de Neubauer em microscópio óptico, em dias alternados, para um maior controle do comportamento das leveduras. A concentração celular das leveduras foi calculada de acordo com a **Equação 16**.

$$C \left( \frac{\text{células}}{\text{mL}} \right) = \left( \left( \frac{(\text{células totais nos 5 quadrantes de contagem})}{5} \right) * 10^4 * D \right) \quad (16)$$

Sendo C = concentração celular e D = diluição utilizada na amostra.

#### 4.7.2 Determinação de peso seco celular

O peso seco celular foi determinado com o auxílio da estufa em cápsulas, previamente secas em estufa, de acordo com a metodologia IAL (238/IV). Consistindo na evaporação a água e do álcool por aquecimento a 100°C por 30 minutos da biomassa resultante da centrifugação de 50 mL de amostra. Ao final pro processo de secagem, as cápsulas são resfriadas em dessecador por 15 minutos e pesadas.

O cálculo de percentual de extrato seco pode ser realizado através da **Equação 17**:

$$\text{Peso seco celular (\%)} = \frac{100 * N}{V} \quad (17)$$

Sendo N = massa do peso seco (massa da cápsula com o extrato subtraída da tara da cápsula) e V = massa tomada de amostra, em mL.

#### 4.7.3 Taxa de crescimento celular

Para a taxa de crescimento celular, Schmidell et. al. (2001) relacionaram as concentrações finais e iniciais de células (células viáveis.ml<sup>-1</sup>) pelo tempo de fermentação (horas), através da **Equação 18**:

$$\text{Taxa de crescimento (células viáveis.ml}^{-1}.h^{-1}) = \frac{\text{Células}_{final} - \text{Células}_{início}}{\text{tempo}_{fermentação}} \quad (18)$$

Sendo o tempo de fermentação de 377 horas para a realização do processo fermentativo neste trabalho.

### 4.8 Acompanhamento cinética de fermentação

#### 4.8.1 Rendimento e eficiência de fermentação

Para o cálculo do rendimento do processo ( $R_p$ ) foi relacionada por Schmidell et. al. (2001), a quantidade de etanol produzido (g/L) com a quantidade de açúcares totais inicial do processo, através da **Equação 19**. Para a Eficiência bioquímica de fermentação ( $E_r$ ) relacionou-se a quantidade de açúcares totais iniciais e finais, com o fator de conversão bioquímica de monossacarídeo (hexose) em etanol, através da **Equação 20**, descritas a seguir.

$$R_p = \frac{\text{Etanol obtido (g.L}^{-1})}{(\text{Açúcares totais iniciais})} * 100 \quad (19)$$

$$E_f = \frac{\text{Etanol obtido (g.L}^{-1}\text{)}}{0,511 * (\text{Açúcares totais}_{\text{início}} - \text{Açúcares totais}_{\text{final}})} * 100 \quad (20)$$

Sendo 0,511 a relação estequiométrica de conversão da glicose em etanol, fator de Gay-Lussac.

#### 4.8.2 Taxa de geração de produto

Também foi analisado outro parâmetro cinético por Schmidell et. al. (2001), a produtividade em etanol da fermentação. Expressa pela massa de etanol produzida (g) por volume (L) de meio em fermentação por unidade de tempo (h), foi calculada pela **Equação 21** (PAVLAK et al., 2011):

$$P = \frac{\text{Etanol obtido (g.L}^{-1}\text{)}}{\text{tempo}_{\text{fermentação}}} \quad (21)$$

Sendo o tempo de fermentação de 377 horas para a realização do processo fermentativo neste trabalho.

#### 4.8.3 Taxa de consumo de substrato

Para a taxa de consumo de substrato Schmidell et. al. (2001) relacionaram as concentrações finais e iniciais de substrato (g.L.h<sup>-1</sup>) pelo tempo de fermentação (horas), através da **Equação 22**:

$$\text{Taxa de consumo} = \frac{\text{Açúcares}_{\text{início}} - \text{Açúcares}_{\text{final}}}{\text{tempo}_{\text{fermentação}}} \quad (22)$$

Sendo o tempo de fermentação de 377 de horas para a realização do processo fermentativo neste trabalho.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

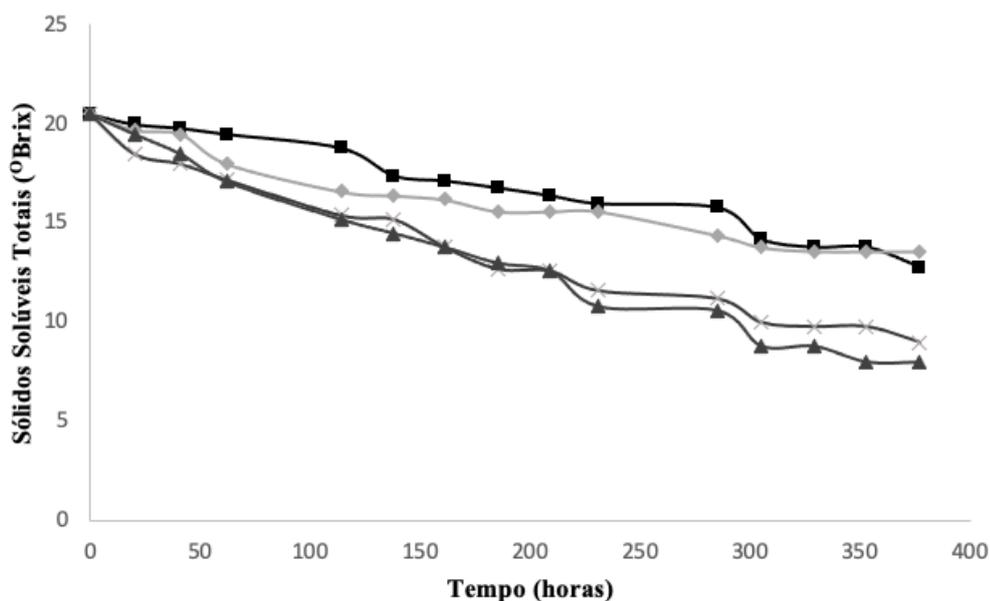
### 5.1 Acompanhamento do processo fermentativo

O desenvolvimento do processo fermentativo para produção do hidromel foi acompanhado diariamente através da quantificação do °Brix, como mostrado na **Figura 6**.

**Figura 6** – Variação do Brix em função do tempo, sendo: -■- *Saccharomyces cerevisiae* sem suplementação (SC-SS), -x- *Saccharomyces cerevisiae* com suplementação (SC-CS), -◆- *Saccharomyces bayanus* sem suplementação (SB-SS), -▲- *Saccharomyces bayanus* com suplementação (SB-CS)

Fonte: Autora, 2024.

Inicialmente, todos os mostos possuíam o mesmo °Brix, tendo em vista, que foram utilizados o mesmo mel e as mesmas proporções para as diluições. No entanto, após 20 horas de



fermentação, foi possível perceber os diferentes comportamentos de cada mosto, pela diferença de variação do °Brix.

Se avaliarmos o processo com relação a levedura, é possível perceber que tanto a *Saccharomyces cerevisiae* quanto a *Saccharomyces bayanus*, possuem a habilidade de se propagar no meio com elevada concentração de açúcar e que a suplementação de nitrogênio no mosto, influenciou na propagação de ambas de forma altamente positiva, corroborando com o descrito por Pereira et al. (2009). Ainda, o comportamento das duas leveduras estudadas se mostrou bastante similar até 209 horas de fermentação, entretanto a partir desse período a *S. bayanus*, no meio suplementado, mostrou um maior consumo de açúcar em relação a *S.*

cerevisiae, demonstrando assim, uma maior adaptação ao meio e resistência ao estresse provocado pela concentração de álcool, fato observado também por Fernando (2016).

Em se tratando da influência da inserção de nitrogênio, os mostos suplementados apresentaram um maior potencial de transformação de açúcares em álcool do que os sem suplementação, resultando assim, em processo fermentativo mais ágil.

Assim como nesse trabalho, Pereira et al. (2014) também avaliaram a influência suplementação de nitrogênio no mosto do mel para produção de hidromel. Para isso, os autores utilizaram duas leveduras (*Saccharomyces cerevisiae* QA23 e ICV D47) e mostos que continham 37% de mel em sua composição, sem e com suplementação de nitrogênio (concentração final de 267 mg.L<sup>-1</sup>). O processo fermentativo sem suplementação foi encerrado em 240 horas, mas, com suplementação, o tempo foi reduzido para 96 horas. Segundo os autores, a adição de nitrogênio assimilável ao mosto resulta em uma taxa de fermentação aumentada e, conseqüentemente, em uma redução significativa no tempo necessário para a fermentação. Durante todo o processo fermentativo, a conversão de açúcares em álcool dos mostos suplementados ocorreu em um período de tempo menor, como esperado, quando comparados aos mostos que não foram suplementados.

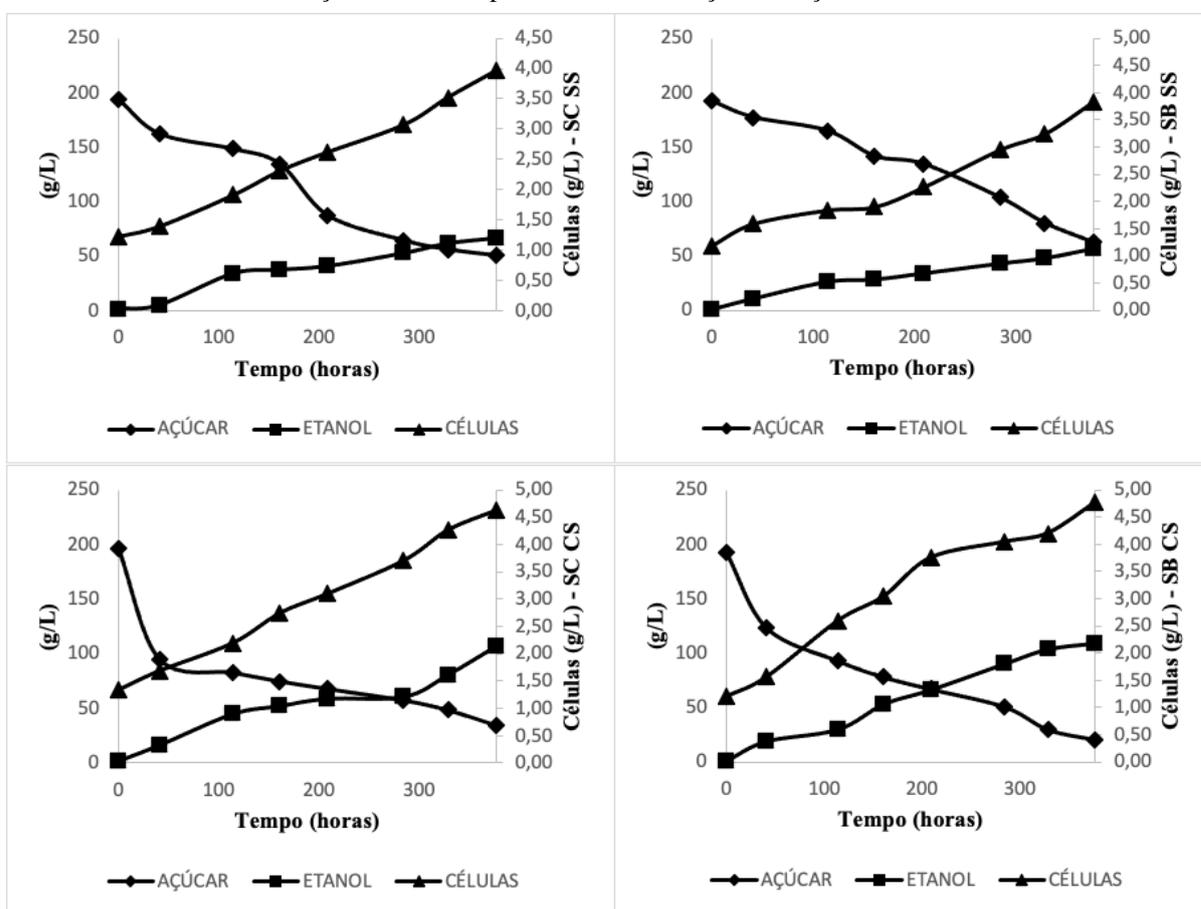
De acordo com Brunelli (2015), a fermentação é dada por encerrada com a estabilização do teor de sólidos solúveis (°Brix) do fermentado. Após 377 horas de fermentação, ocorreu a estabilização do teor de sólidos solúveis dos fermentados 2 (SC-CS) e 4 (SB-CS), sendo os fermentados que possuíam suplementação. Possivelmente, o fim da fermentação nesses reatores ocorreu em razão da concentração de álcool já ser igual ou superior as que as leveduras conseguem tolerar, visto que ainda havia açúcar disponível no meio. Já os fermentados sem suplementação, por serem mais lentos, tiveram um tempo maior de processo fermentativo, até que ocorresse uma estabilização do °Brix.

Durante o processo fermentativo, alguns parâmetros precisam ser acompanhados, para que se obtenha êxito no processo. Além da qualidade da matéria prima, pH, temperatura, teor de açúcares e disponibilidade de nutrientes, a taxa de inoculação de leveduras é fundamental no processo de obtenção de hidromel (Pereira et al., 2013).

## 5.2 Acompanhamento cinético do processo fermentativo

Durante a fermentação, avaliou-se parâmetros do sistema de modo que os perfis cinéticos para as diferentes cepas de leveduras e em diferentes condições, com suplementação e sem suplementação, que podem ser observados na **Figura 7**. Para Silva (2009), a produção de bebidas alcoólicas de qualidade e seguras para o consumo é necessário o controle das variáveis do processo fermentativo.

**Figura 7** – Perfis cinéticos para leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces bayanus* em diferentes condições. Células = peso seco celular. Açúcar – Açúcares totais.



Fonte: Autora, 2024.

O crescimento das leveduras seguiu a mesma tendência da redução do °Brix, como mostrado da **Tabela 2**, de maneira que os mostos suplementados (SC-CS e SB-CS) obtiveram um maior crescimento microbiano do que os sem suplementação, tendo ainda, um crescimento levemente superior para a *S. bayanus* (SB-CS).

Martínez-Moreno et al. relata que o rendimento de biomassa é dependente da quantidade de nitrogênio disponível, da natureza da fonte de nitrogênio e da concentração de açúcar no

meio, de maneira que todos esses parâmetros podem influenciar no processo fermentativo. O que explica essa diferença significativa no crescimento das células.

Para os fermentados produzidos com as leveduras SC-CS e SB-CS pode-se observar como as células apresentam um crescimento similar até 114 horas de fermentação, após isso, a levedura SB-CS apresentou um crescimento de forma mais expressiva, já a SC-CS continuou aumentando, alcançando valores aproximados, porém, de forma mais lenta.

**Tabela 2** – Taxa de inoculação, contagem pós fermentação e taxa de crescimento das leveduras.

PARÂMETROS	SC-SS	SC-CS	SB-SS	SB-CS
Concentração inóculo (células viáveis.mL <sup>-1</sup> )	1,53x10 <sup>6</sup>	1,53x10 <sup>6</sup>	1,53x10 <sup>6</sup>	1,53x10 <sup>6</sup>
Concentração final (células viáveis.mL <sup>-1</sup> )	4,12x10 <sup>6</sup>	6,93x10 <sup>6</sup>	3,95x10 <sup>6</sup>	7x10 <sup>6</sup>
Taxa de crescimento (células viáveis.mL <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup> )	7x10 <sup>3</sup>	1,45x10 <sup>4</sup>	6,42x10 <sup>3</sup>	1,45x10 <sup>4</sup>
Taxa de consumo de substrato (g.L.h <sup>-1</sup> )	0,38	0,43	0,34	0,46
Taxa de geração de produto (g.L.h <sup>-1</sup> )	0,18	0,22	0,15	0,23

Fonte: Autora, 2024.

No decorrer das fermentações, a viabilidade celular das leveduras foi verificada para todos os fermentados, porém, não apresentaram um percentual maior do que 5% para células mortas, então a taxa específica de morte celular não foi engloba na cinética (Silva e Bertucco, 2018).

Para a cepa de levedura *Saccharomyces cerevisiae* (sem suplementação) pode-se observar que houve um crescimento mais expressivo das células até 285 horas de fermentação (Figura 7), com uma taxa de crescimento de 7x10<sup>3</sup> células viáveis.ml<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> e com uma concentração final de leveduras de 3,96 g L<sup>-1</sup> (4,12x10<sup>6</sup> células viáveis.ml<sup>-1</sup>). Além disso, apresentou um consumo de substrato de 142,99 g L<sup>-1</sup> (50,54 g L<sup>-1</sup> de açúcar residual) e atingindo a produção de etanol de 67,03 g L<sup>-1</sup>.

Para a mesma cepa de levedura, mas, com o mosto suplementado, o crescimento das células foi mais acentuado após 285 horas de fermentação, com uma taxa de crescimento de 1,45x10<sup>4</sup> células viáveis.ml<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> e com uma concentração final de leveduras de 4,63 g L<sup>-1</sup> (6,93x10<sup>6</sup> células.ml<sup>-1</sup>). Além disso, o consumo de substrato foi significativo nas primeiras horas de fermentação, alcançando valores de 161,47 g L<sup>-1</sup> (34,65 g L<sup>-1</sup> de açúcar residual), atigindo a produção de etanol de 81,53 g L<sup>-1</sup>.

Os resultados constataam que a ausência de suplementação interferiu no rendimento do hidromel, quando comparado com o desempenho da mesma cepa, com a adição da suplementação. De acordo com Pereira et al. (2014), o nitrogênio afeta as células de levedura

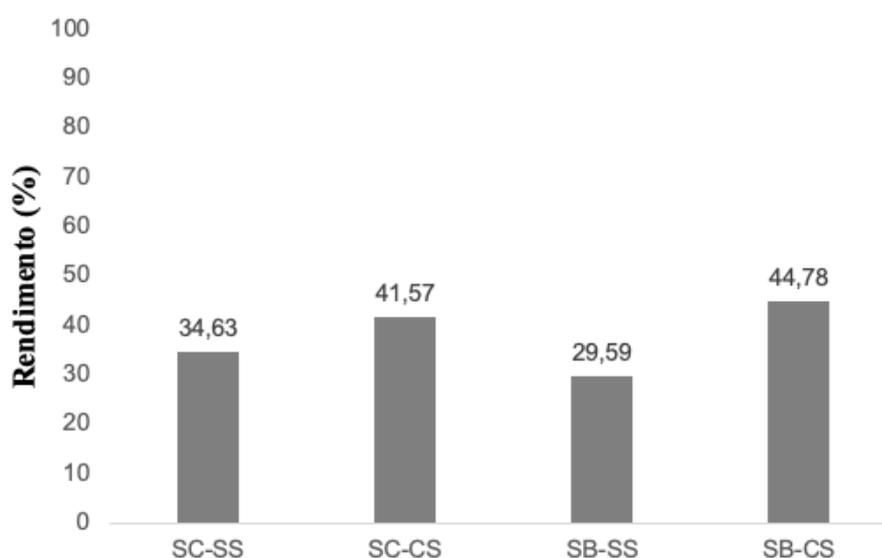
de duas maneiras, seja pelo aumento da produção de biomassa e/ou pelo estímulo da taxa de utilização de açúcar.

Para a cepa de levedura *Saccharomyces bayanus* (sem suplementação), o crescimento das células apresentou uma tendência parecida com o da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (sem suplementação), porém, com uma taxa de crescimento de  $6,42 \times 10^3$  células viáveis. $\text{ml}^{-1}.\text{h}^{-1}$  e com uma concentração final de leveduras de  $3,83 \text{ g L}^{-1}$  ( $3,95 \times 10^6$  células. $\text{ml}^{-1}$ ). Apresentando um consumo substrato menor, alcançando o valor de  $129,58 \text{ g L}^{-1}$  ( $62,31 \text{ g L}^{-1}$  de açúcar residual), atingindo a produção de etanol de  $56,77 \text{ g L}^{-1}$ .

Para a cepa de levedura *Saccharomyces bayanus* (com suplementação), as células tiveram um crescimento bastante significativo a partir das 114 horas de fermentação (Figura 7), com uma taxa de crescimento de  $1,45 \times 10^4$  células viáveis. $\text{ml}^{-1}.\text{h}^{-1}$  e uma concentração final de leveduras de  $4,76 \text{ g L}^{-1}$  ( $7 \times 10^6$  células. $\text{ml}^{-1}$ ). O consumo de substrato atingiu um valor de  $171,94 \text{ g L}^{-1}$  ( $20,68 \text{ g L}^{-1}$  de açúcar residual), atingindo uma produção de etanol de  $86,45 \text{ g L}^{-1}$ .

Os parâmetros de rendimento, eficiência e produtividade, podem ser avaliados a partir das **Figuras 8, 9 e 10**.

**Figura 8** – Rendimento em conversão do substrato em produto pelas leveduras avaliadas (SC-SS - *Saccharomyces cerevisiae* (sem suplementação); SC-CS - *Saccharomyces cerevisiae* (com suplementação); SB-SS - *Saccharomyces bayanus* (sem suplementação); SB-CS - *Saccharomyces bayanus* (com suplementação))



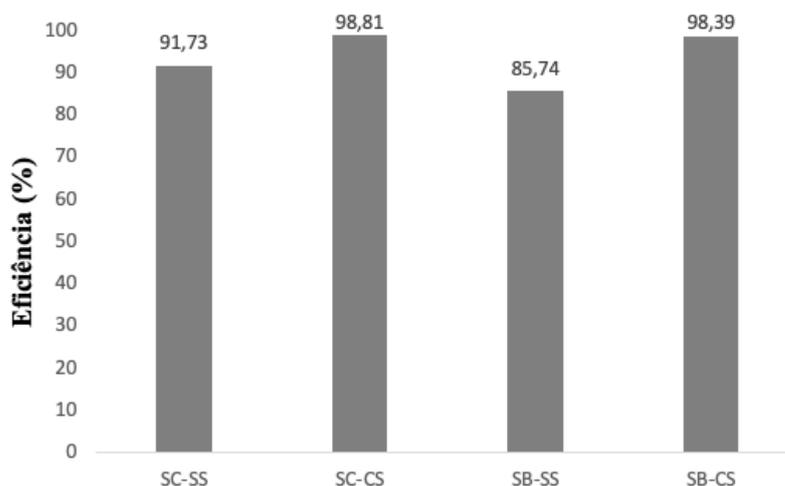
Fonte: Autora, 2024.

Através dos resultados obtidos para o rendimento em conversão dos açúcares em etanol, pode-se observar que, em se tratando dos mostos não suplementados, foram obtidos valores de

34,63% e 29,59%, respectivamente, para as leveduras SC-SS e SB-SS. Valores inferiores aos dos hidroméis produzidos através da utilização da suplementação como parâmetro comparativo. Verifica-se que a cepa *S. bayanus* - Red Star Premier Blanc com suplementação se destacou, com rendimento de 44,78%, resultado superior aos demais, inclusive, ao da cepa *S. cerevisiae* com suplementação, que teve como rendimento 41,57%. Em seu estudo, Ferraz (2015) obteve 43% de rendimento utilizando *S. bayanus* – Red Star Pasteur Champagne, cepa esta que apresentou também melhor desempenho na eficiência de conversão de açúcares em etanol.

Da mesma forma, Araújo et al. (2020) estudou a produção de hidromel utilizando as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* Safbrew T-58 e *Saccharomyces bayanus* (Premier Blanc e Premier Cuvée). Para isso, as fermentações contaram com um mosto de mel com 30°Brix, suplementado com sulfato de amônio, cloreto de magnésio e extrato de feijão-caupi, a 30°C e por um período de 240 horas. Ao final do processo fermentativo foram obtidos percentuais máximos de consumo de substrato e produção de etanol de 90% e 15,5% (v/v), respectivamente, destacando-se a levedura *S. bayanus* Premier Blanc que alcançou maiores rendimentos volumétricos de etanol (0,51–1,52 h<sup>-1</sup>).

**Figura 9** - Eficiência em conversão do substrato em produto pelas leveduras avaliadas (SC-SS - *Saccharomyces cerevisiae* (sem suplementação); SC-CS - *Saccharomyces cerevisiae* (com suplementação); SB-SS - *Saccharomyces bayanus* (sem suplementação); SB-CS - *Saccharomyces bayanus* (com suplementação)).

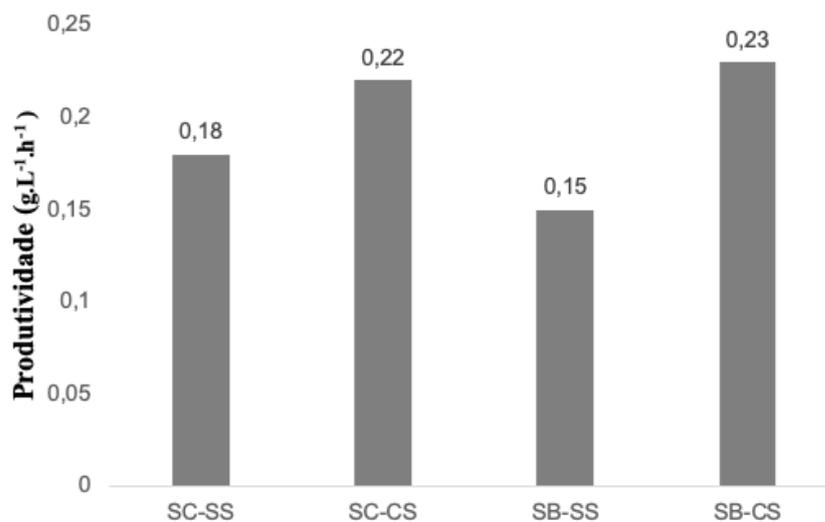


Fonte: Autora, 2024.

Consequentemente, para os valores de eficiência *S. cerevisiae* com suplementação se destacou, alcançando o valor de 98,81% de eficiência. Os autores de Ilha et. al. (2008), obtiveram parâmetros fermentativos através da produção de hidromel a partir de mosto de mel com 21° de brix inicial, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, a uma concentração

inicial de 4 g/L e fermentação a temperatura ambiente. A fermentação foi mantida até a estabilização da concentração alcoólica, o processo ocorreu em 84h, com valores de rendimento de 41% e eficiência de fermentação de 81,27%.

**Figura 9** - Produtividade em conversão do substrato em produto pelas leveduras avaliadas (SC-SS - *Saccharomyces cerevisiae* (sem suplementação); SC-CS - *Saccharomyces cerevisiae* (com suplementação); SB-SS - *Saccharomyces bayanus* (sem suplementação); SB-CS - *Saccharomyces bayanus* (com suplementação)).



Fonte: Autora, 2024.

Também foi possível obter os dados para produtividade, apresentando um maior valor para a levedura *S. bayanus* - Red Star Premier Blanc com suplementação, que teve valor de 0,23 g.L.h<sup>-1</sup>, o que era o esperado, tendo em vista o hidromel produzido nessas mesmas condições apresentou o maior rendimento de conversão de substrato em produto. Ainda no estudo de Ferraz (2015), foi obtido o valor de 1,134 g.L.h<sup>-1</sup> para a produtividade em relação ao etanol equivalente, porém, com um tempo de fermentação menor quando comparado com este trabalho (84 horas), o que justifica a diferença entre os valores.

### 5.3 Caracterização do hidromel

A caracterização físico-química de bebidas fermentadas é de suma importância para garantir a qualidade das mesmas, os hidroméis produzidos nesse trabalho foram caracterizados, conforme mostrado na **Tabela 3**. A determinação do pH no mel está relacionada ao seu fator antimicrobiano, a maioria dos microrganismos patogênicos se desenvolve entre os pH 7,2 a 7,4, como o pH do mel é ácido na faixa de 3,5 a 5,5 temos uma diminuição de microrganismos contaminantes (Gois et al., 2013). Em se tratando dos hidroméis produzidos, os valores de pH

ficaram na faixa de 3,3 a 3,4, próximo da faixa de variação sugerida por Gupta e Sharma (2009), de 3,4 a 4,0, sendo aceitável para a produção de hidromel.

De acordo com a Instrução Normativa nº 34 de 29 de novembro de 2012 Brasil (2012), o hidromel pode ser classificado em seco ou suave, de acordo com a quantidade de açúcar residual na bebida. Os teores de açúcar residual nos 4 hidroméis apresentaram valores acima de  $3 \text{ g L}^{-1}$ , o que significa que estes podem ser classificados como suave.

As cinzas determinadas representam a quantidade de conteúdo mineral presente na bebida. A faixa encontrada para a determinação de cinzas nesse estudo ( $0,13 \text{ g L}^{-1} - 0,33 \text{ g L}^{-1}$ ) é inferior aos resultados de Santos (2014) que obteve  $0,92 \text{ g L}^{-1}$  para o processo utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, mas ainda assim, divergiu da legislação e de outros estudos.

Da mesma forma, Galletti Júnior (2020) realizou a produção de hidromel avaliando dois méis diferentes (aroeira e silvestre) com ( $30 \text{ g.L}^{-1}$ ) e sem suplementação de pólen. Para isso os mostos de méis foram preparados com  $29^\circ \text{Brix}$  inicial e foi utilizado a levedura Lalvin ICV-D47. Assim como nesse trabalho, o autor alcançou uma concentração de cinzas de  $0,92-1,13 \text{ g.L}^{-1}$  para os meios sem suplementação de pólen, não se enquadrando na legislação, esses resultados são coerentes pois de acordo com o autor esse parâmetro está relacionado ao mel e a adição de pólen, por exemplo, insere no mosto valores entre 1,33 e  $4,12 \text{ g}/100\text{g}$  de cinzas, contribuindo com o valor final do produto, de maneira que para os mostos suplementados os hidroméis apresentaram uma concentração de cinzas esperada ( $1,57-1,60 \text{ g.L}^{-1}$ ).

Para os valores de acidez volátil e acidez total, a Portaria nº 64, de 23 de abril de 2008 (Brasil, 2008), delimita os limites máximos de  $20 \text{ meq.L}^{-1}$  e  $130 \text{ meq.L}^{-1}$ , respectivamente, demonstrando então que os valores de acidez volátil e total obtidos, estão de acordo com o que é exigido pela legislação. Os hidroméis apresentaram valores de acidez volátil entre 3,19 e 4,17, sendo os hidroméis que foram suplementados, os que apresentaram valores maiores de acidez volátil. O mesmo ocorreu para a acidez total, que apresentou valores entre 53,99 e 71,66, tendo como maior acidez total o hidromel produzido utilizando a cepa de levedura *Saccharomyces cerevisiae* com suplementação (71,66), diferentemente da acidez volátil, que a cepa de levedura que se superou foi a *Saccharomyces bayanus* com suplementação (4,17). Dantas (2016) obteve valores de acidez total durante o processo que variaram de 51,6 a  $93,3 \text{ meq.L}^{-1}$ . Para a acidez fixa, a Instrução Normativa nº 34 de 29 de novembro de 2012 Brasil (2012) delimita os limites mínimos de  $30 \text{ meq.L}^{-1}$  estando assim, os valores obtidos (50,80-67,98) também em conformidade com a legislação.

**Tabela 3** – Análises físico-químicas do Hidromel

	SC-SS	SC-CS	SB-SS	SB-CS	Legislação
<b>Açúcar residual (g L<sup>-1</sup>)</b>	50,54±2,53	34,65±1,73	62,31±3,11	20,68±1,03	> 3 (suave)
<b>Peso seco celular (g L<sup>-1</sup>)</b>	3,96±0,20	4,63±0,23	3,83±0,19	4,76±0,24	NA
<b>pH</b>	3,34±0,17	3,38±0,17	3,31±0,16	3,39±0,17	NA
<b>Cinzas (g L<sup>-1</sup>)</b>	0,13±0,01	0,23±0,01	0,20±0,01	0,33±0,02	≥ 1,5
<b>Acidez fixa (meqL<sup>-1</sup>)</b>	55,71±2,78	67,98±3,40	50,80±2,54	64,55±3,23	≥ 30
<b>Acidez total (meqL<sup>-1</sup>)</b>	58,90±2,94	71,66±3,58	53,99±2,70	68,72±3,44	50-130
<b>Acidez volátil (meqL<sup>-1</sup>)</b>	3,19±0,48	3,68±0,49	3,19±0,33	4,17±0,49	≤ 20
<b>Etanol (%)</b>	8,49	10,33	7,19	10,95	4 a 14%

NA = não se aplica. **Fonte:** Autora, 2024.

Ferraz (2015), realizou a produção de hidromel em escala piloto (130L) utilizando um mosto de mel com 30°Brix, sem suplementação e suplementado com Enovit e pedaços de maçã (10% m/v). Para isso, o autor fez uso da levedura *Saccharomyces bayanus* e após 60 dias de fermentação os hidroméis produzidos continham um teor de álcool variando entre 8,9-9,6%, acidez volátil, fixa e total entre 3,17-5,21, 27,66-35,57 e 32,87-40,40 meq L<sup>-1</sup>, respectivamente, e açúcar residual total com valores que variaram entre 5,91-11,74 g L<sup>-1</sup>.

Mileski (2016), realizou a produção de hidromel utilizando um mosto de mel com 27 °Brix suplementado com fosfato de amônio dibásico (25 g L<sup>-1</sup>) e diferentes cepas de leveduras *Saccharomyces* (Red Star champagne, Lalvin EC 1118 e Fleischmann). Após período de fermentação, os hidroméis produzidos possuíam um teor alcoólico entre 14,39-17,16%, acidez volátil e total com valores de 9 a 11,33, 53,66 a 66,66 meq.L<sup>-1</sup>, respectivamente, se destacando a cepa Red Star champagne que apresentou aproveitamento de 93% e um rendimento de 47,7%. Em relação ao etanol produzido, foram obtidas porcentagens que se encontram dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente para o teor alcoólico (4-14%). O teor alcoólico das bebidas está diretamente relacionado a capacidade das leveduras de transformar os açúcares presentes no mosto em álcool e dióxido de carbono (Deman, et al., 2018).

## 6. CONCLUSÕES

Com o estudo realizado, foi possível observar que ambas as leveduras, *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces bayanus*, tiveram comportamentos positivos no meio com elevada concentração de açúcar, além de apresentar propagações ótimas através da suplementação de nitrogênio no mosto, demonstrando uma maior agilidade no processo fermentativo. Vale ressaltar que a levedura *Saccharomyces bayanus* demonstrou uma maior resistência ao estresse em concentrações de etanol.

Os hidromeis produzidos com suplementação, para ambas leveduras, apresentaram maiores potenciais de conversão de substrato em produto, apresentando melhores rendimentos e eficiências. E, ainda, por apresentarem maiores eficiências, tiveram a estabilização dos Sólidos Solúveis Totais com menor tempo de processo fermentativo.

Quanto ao custo benefício para a produção do hidromel, fazendo uma avaliação das leveduras utilizadas e, de acordo com os parâmetros de eficiência e rendimento obtidos para ambas, foi possível observar que a cepa de levedura *Saccharomyces cerevisiae* (*Fleischmann*) possui potencial para a produção de hidromel em larga escala. Tendo em vista, que esta possui um valor bem mais acessível, quando comparada com *Saccharomyces bayanus* (*Red Star Premier Blanc*).

## REFERÊNCIAS

- Abud, A. K. S. **Estudo do comportamento cinético e da estabilidade de uma linhagem recombinante de *Saccharomyces cerevisiae* no processo de fermentação alcoólica de amiláceos.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade de São Paulo, 1997.
- Alves, D.M.G. **Fatores que afetam a produção de ácidos orgânicos bem como outros parâmetros da fermentação alcoólica.** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo. 1994, 128p. (Dissertação- Mestrado em Microbiologia).
- Andrietta, S.R. **Apostila do Curso de Engenharia de Fermentação.** p. 71; 99, 2007.
- Aravéchia P.R. **Estudo da Influência da Pureza do Xarope e Mel Final Resultante de Produção de Açúcar na Contaminação do Processo Fermentativo e Seletividade do Meio.** IFSP – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo Campus Matão, 2013.
- Araújo, G.Z.; Gutiérrez, M.P.; Sampaio, K.F.; de Souza, S.M.A.; Rodrigues, R.C.L.B.; Martínez, A. **Mead Production by *Saccharomyces cerevisiae* Saffbrew T-58 and *Saccharomyces bayanus* (Premier Blanc and Premier Cuvée): Effect of Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) Extract Concentration.** Applied Biochemistry and Biotechnology, v. 191, p. 212-225, 2020. <https://doi.org/10.1007/s12010-020-03267-0>
- Basso, L.C.; Alves, D.M.G. e Amorim, H.V. **Processos de produção de álcool – Controle e Monitoramento**, 2<sup>a</sup> ed. FERMENTEC/FEALQ/ESALQ – USP. Piracicaba, 1996.
- Batista, A. C. **Avaliação das características tecnológicas de hidromel tipo melomel produzido com diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae*.** 2017. 39 f Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2017.
- Bely, M., Salmon, J.M., and Barre, P. (1994) **Assimilable nitrogen addition and hexose transport system activity during enological fermentation**, J. Inst. Brew. 100, 279–282.
- Berg J.M.T., Tymoczko J.L., Stryer L. **Bioquímica.** 6 ed. Guanabara Koogan, 2008.
- Brasil. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. **Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 20 de outubro de 2000.

Brasil. Instrução Normativa nº 34, de 29 de novembro de 2012. **Estabelece a Complementação dos Padrões de Identidade e Qualidade para as Bebidas Fermentadas**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF. 2012.

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

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 6.871, de 04 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 julho de 1994. **Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF. Brasil. (2012).

Brunelli, L. T. **Caracterização físico-química, energética e sensorial do hidromel**. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2015.

Campos, G. et al. **Classificação do mel em floral ou mel de melato**. Ciência e Tecnologia de Alimentos. v. 23, n. 1, p. 1-5, 2003.

Carvalho, J. C. M.; Sato, S. **Fermentação descontínua. Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica**. São Paulo. Editora Edgar Bluncher, v.2, cap. 9, p. 193-204, 2001.

Cnpem. Disponível em <http://cnpem.br/fermentacao-continua-ou-em-batelada/>. Acesso 23/01/2024

Dantas, T. M. C. **Avaliação cinética da fermentação alcoólica de méis industriais como substrato na produção de hidromeis**. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.

Daré, R. M. **Avaliação de coeficientes de rendimento e modelagem do precesso fermentativo de produção de etanol**. Dissertação, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, p. 67. 2008.

Deman, John M. et al. **Principles of Food Chemistry**. Food Science Text Series, [s.l.], p.484-485, 2018. Springer International Publishing. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-63607-8>.

De Paula, B., Carvalho Filho, C. D., Matta, V. M., Menezes, J. S., Lima, P. C., Pinto, C. O., Conceição, L. E. M. G. **Produção e caracterização físico-química de fermentado de umbu**. Ciência Rural, v. 42, n. 9. 2012.

Ferraz, F. O. **Estudo dos parâmetros fermentativos, características físico-químicas e sensoriais do hidromel.** Tese, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2015.

Galletti Júnior, M. **Características físico-químicas e sensoriais de hidroméis produzidos a partir de mel silvestre ou mel de aroeira, utilizando ou não pólen apícola na sua fabricação.** Dissertação de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2020.

Góes-Favoni, Silvana Pedroso et al. **Fermentação alcoólica na produção de etanol e os fatores determinantes do rendimento.** Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais, v. 9, n. 4, p. 285-296, 2018.

Gois, G. C. **Composition of honey from *Apis mellifera*: Quality requirements.** Acta Veterinaria Brasilica, [s.l.], v. 7, n. 2, p.137-147, 23 ago. 2013. Editora da Universidade Federal Rural do Semi-Arido - EdUFERSA. <http://dx.doi.org/10.21708/avb.2013.7.2.3009>.

Gomes, T. M. C. **Produção de Hidromel: efeito das condições de fermentação.** Dissertação de Mestrado em Biotecnologia, Escola Superior Agrária de Bragança. Bragança, 2010.

Gretschmann, A. S. **Ajuste de curvas na produção de etanol num processo em batelada.** Encontro Gaúcho de Educação matemática. Ijuí, Rio Grande do Sul, 2009.

Gupta, J. K.; Sharma, Rajesh. **Production technology and quality characteristics of mead and fruit-honey wines: A review.** 2009.

IAL – Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos (IV).** São Paulo, 2008

Ilha, E. C., Sant`anna, E., Torres, R. C., Porto, A. C., Meinert, E. M. **Utilization of bee (*Apis mellifera*) honey for vinager production at laboratory scale.** Acta Científica Venezolana, v.51, p. 231-235, 2000.

Knauf, M.; Kraus, K. **Specific yeasts developed for modern ethanol production.** Sugar Industry, v. 131, n. 1, p. 753-758, 2006.

Küçük, M., Kolailı, S., Karaoğlu, Ş., Ulusoy, E., Baltacı, C., and Candan, F. **Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia.** Food Chem.100, 526–534, 2007.

- Lima, U.A.; Basso, L.C.; Amorim, H.V. **Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos**. Blucher, São Paulo, pp. 1-43, 2001.
- Lopes, J. J. C., Parazzi, C. **Fermentação Alcoólica**. Araras, SP, UFSCar/DTAiSER, 26 P., 2007.
- Margaoan, R., Cornea-Cipcigan, M., Topal, E., Kosog ̃lu, M. **Impact of Fermentation Processes on the Bioactive Profile and Health-Promoting Properties of Bee Bread, Mead and Honey Vinegar**. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. p. 1-34. 2020.
- Martínez-Moreno, R., Morales, P., Gonzales, R., Mas ,A. and Beltran, G. (2012) **Biomass production and alcoholic fermentation performance of *Saccharomyces cerevisiae* as a function of nitrogen source**, FEMS Yeast Res. 12, 477–485.
- Mattietto, R. A.; Lima, F.C. C.; Venturieri, G. C.; Araújo, A. A. **Tecnologia para obtenção artesanal de Hidromel do tipo doce**. Embrapa. Comunicado Técnico 170, p.1-5, 2006.
- Mendes-Ferreira, A., Cosme, F., Barbosa, C., Falco, V., Inês, A., and Mendes-Faia, A. (2010) **Optimization of honey-must preparation and alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* for mead production**, Int. J. Food Microbiol. 144, 193–198.
- Mendes, T. A. O., Pinto, L. M., Mendes, D. S. O., Malta, H. L., Oliveira, E. S. **Increase in yeast biomass production in batch and semi-continuous aerated propagators in the production of sugarcane spirit**. Food Technology Journal, v. 16, n. 2, p. 81-89, 2013.
- Mileski, J. P. F. **Produção e caracterização de hidromel utilizando diferentes cepas de leveduras *Saccharomyces***. Dissertação (Mestrado Profissionalizante em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Londrina – PR, 87 p., 2016.
- Nascimento, A. I. L. F., Costa, D. G., Dantas, I. L., Oliveira, A. M., Abud, A. K. **Avaliação do Modelo de Monod para fermentação em caldo residual de casca de jaboticaba**. Scientia Plena. 2018.
- Naves, R. F., Fernandes, F. S., Pinto, O. G., Naves, P. L. F. **Contaminação microbiana nas etapas de processo e sua influência no rendimento fermentativo em usina sucroalcooleira**. Enciclopédia Biosfera – Centro Científico Conhecer. Goiânia, v. 6, n. 11, p. 17, 2010.
- Patelski, A. M., Dziekonska-Kubczak, U., Ditych, M. **The fermentation of Orange and black juices by the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *bouardii***. Institute of Fermentation

Technology and Microbiology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Lodz University of Technology, Wolczanska 171/173, 90-530 Lodz, Poland.

Pavlak, M. C. M., Lima, T. L. A., Carreiro, S. C., Paulillo, S. C. L. **Estudo da Fermentação do Hidrolisado de batata-doce utilizando diferentes linhagens de *Saccharomyces cerevisiae***. Tocantins, v. 34, n. 1, p. 82-86, 2011.

Pereira, F. B., Guimarães, P. M. R., Teixeira, J. A., and Domingues, L. **Optimization of low-cost medium for very high gravity ethanol fermentations by *Saccharomyces cerevisiae* using statistical experimental designs**. Bioresour. Technol. 101, 7856–7863. 2010.

Pereira, A. P., Ferreira, A. M., Oliveira, J. M., Estevinho, L. M. **Mead production: effect of nitrogen supplementation on growth, fermentation profile and aroma formation by yeasts in mead fermentation**. 2015.

Pereira, A. P., Mendes-Ferreira, A., Oliveira, J. M. **Effect of *Saccharomyces cerevisiae* cells immobilisation on mead production**. LWT- Food Science and Technology, Amsterdam, v. 56, p. 21–30, 2014.

Phisalaphong, M., Srirattana, N., Tnathapanichakoon, W. (2006) **Mathematical modeling to investigate temperature effect on kinetic parameters of ethanol fermentation**. Biochem Eng J 28:36–43

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

Ramalhosa, E., Gomes, T., Pereira, A.P., Dias, T., Estevinho, L.M. **Mead production: Tradition versus modernity**, in Advances in Food and Nutrition Research (Jackson, R.S. Ed.) pp. 101–118, Academic Press, Burlington, VA, 2011.

Santos, E. O. **Produção de hidromel a partir de mel elaborado por abelhas jataí (*Tetragonisca Angustula*) do município de Rio Bonito do Iguçu – PR**. Engenharia de Alimentos, Universidade Federal da Fronteira Sul. Laranjeiras do Sul – PR, 2014.

Schmidell W, Facciotti MCR (2001) **Biorreatores e Processos Fermentativos**. In: Schmidell W et al (Coord.) Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica. Edgar Blücher, São Paulo, 23: 179–192.

Schmidell W., Lima A. U., Aquarone E., and Borzani W., **Biotechnologia Industrial**. *Volume 2*, 2001, Edgard Blücher, São Paulo, Brazil.

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

Silva, C. E. F., Bertucco, A. **A Two-Stage System for the Large-Scale Cultivation of Biomass: a Design and Operation Analysis Based on a Simple Steady-State Model Tuned on Laboratory Measurements**. *BioEnergy Research*, v. 11, p. 398-413, 2018.

Silva, C. G. da. **Otimização da fabricação da aguardente de algaroba e aproveitamento dos resíduos sólidos em produtos alimentares**. Campina Grande: UFCG/CCT, 2009. 235p. (Tese de Doutorado).

Sroka, P.; Satora, P. **The influence of hydrocolloids on mead wort fermentation**. Department of Fermentation Technology and Technical Microbiology, University of Agriculture in Krakow, ul. Balicka 122, 30-149 Krakow, Poland.

Vieira, R. C., Silva, C. E. D. F., da Silva, L. O. M., Almeida, R. M. R. G., de Oliveira Carvalho, F., & dos Santos Silva, M. C. (2020). **Kinetic modelling of ethanolic fermented tomato must (*Lycopersicon esculentum* Mill) in batch system: influence of sugar content in the chaptalization step and inoculum concentration**. *Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis*, 130(2), 837-862.

Wiese, H. **Apicultura: novos tempos**. 2ª ed., Guaíba: Ed. Agropecuária, 2005.

Zanin, G., Maronesi, S. B., Borgonovi, T. F., Penna, A. L. B., Dato, M. C. F., & Diamantino, M. T. R. S. **Atividade Antimicrobiana e potencial antioxidante de mel de diferentes marcas**. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto, 2019.