



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA ALIMENTAR
UNIDADE ACADÊMICA DE TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**



FLÁVIA SIMONE GOMES

**PROCESSO FERMENTATIVO DE BEBIDA ALCOÓLICA MISTA DE MEL DE
ABELHA E LÚPULO**

POMBAL – PB

2015

FLÁVIA SIMONE GOMES

**PROCESSO FERMENTATIVO DE BEBIDA ALCOÓLICA MISTA DE MEL DE
ABELHA E LÚPULO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Unidade de Acadêmica de Tecnologia de Alimentos, do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Pombal, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientador:

Prof. Dr. Adriano Sant'Ana Silva

POMBAL – PB

2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

G633p

Gomes, Flávia Simone.

Processo fermentativo de bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo / Flávia Simone Gomes. – Pombal, 2015.

68 f. : il., color.

Monografia (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar.

Orientação: Prof. Dr. Adriano Sant'Ana Silva.

Referências.

1. Processo de Fermentação. 2. Bebida Alcoólica - Processo Fermentativo. 3. Mel de Abelha e Lúpulo. I. Silva, Adriano Sant'Ana. II. Título.

CDU 633.15(043)

FLÁVIA SIMONE GOMES

**PROCESSO FERMENTATIVO DE BEBIDA ALCOÓLICA
MISTA DE MEL DE ABELHA E LÚPULO**

BANCA EXAMINADORA

Adriano Sant'Ana Silva

Prof.^o. Dr. Adriano Sant'Ana Silva – UATA/CCTA/UFCG
Orientador

Georgiana Maria Vasconcelos Martins

Prof.^a. Mestre Georgiana Maria Vasconcelos Martins – UATA/CCTA/UFCG
Examinadora Interna

Morgana Fabíola Cunha Silva Canuto

Prof.^a. Dra Morgana Fabíola Cunha Silva Canuto – UATA/CCTA/UFCG
Examinadora Interna

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Francisco Gomes Sobrinho e Maria de Lourdes Alves Gomes;

Aos meus irmãos Flaelton e Francisco (*in memoriam*);

As minhas avós Chica e Olívia *in memoriam*;

Aos meus avôs Vicente e Arcenor *in memoriam* e;

A minha tia Justina *in memoriam*.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente a Deus por tudo que me foi concebido, desde o início da minha vida até no momento de hoje e a Santa Terezinha por sempre me atender.

Aos meus pais, Francisco Gomes Sobrinho e Maria de Lourdes Alves Gomes, pelo amor, esforço e pela oportunidade de estudar. Minha eterna gratidão vai além de meus sentimentos, pois a vocês foi cumprido o dom divino. O dom de ser pai, o dom de ser mãe.

Ao meu irmão pelo exemplo e por sempre estar disposto a me ajudar e a Eva.

Aos meus primos e tios pelo apoio, atenção e por sempre acreditarem em mim, torcendo pelo alcance dos meus objetivos e da minha felicidade.

Ao meu orientador Prof. Dr. Adriano Sant'Ana Silva, pessoa de olhar crítico e construtivo, pelo imenso aprendizado durante o trabalho de pesquisa, pela paciência e atenção, por todo o conhecimento compartilhado.

A todos os professores que fizeram parte da minha jornada, pelo ensino, dedicação e incentivo sempre.

Ao meu companheiro Edgley pela compreensão, apoio e contribuição para minha formação acadêmica.

A todos os meus colegas, amigos e principalmente aqueles que foram mais que amigos: Leonard, Sergina, Flávia Izabely e Anna Cláudia que estiveram comigo, me ajudando a enfrentar as dificuldades, tornando minha caminhada menos sinuosa. Obrigada pelos momentos compartilhados que ficarão guardados na memória.

Agradeço a Débora e Wisla que surgiram com bênçãos e se dedicaram com muita afeição e amizade durante todo o processo de forma ativa e incansável em todos os procedimentos desse estudo.

Aos professores coordenadores dos Laboratórios de Análises de Alimentos e Tecnologia de Produtos Hortícolas, Laboratórios de Sementes e de Operações Unitárias e Fenômenos de Transporte e aos os amigos de laboratório por proporcionarem um ambiente de trabalho agradável, com cooperatividade, respeito e companheirismo.

PROCESSO FERMENTATIVO DE BEBIDA ALCOÓLICA MISTA DE MEL DE ABELHA E LÚPULO

RESUMO

O mel de abelha é um produto amplamente conhecido, sendo na sua grande maioria produzido para ser comercializado como mel de mesa. Todavia, para que o mel possa ser comercializado de tal forma, o mesmo deve atender a rigorosos critérios de qualidade. Aquele que não atender a esses critérios poderá ser aproveitado para fins industriais. Dentro deste contexto, torna-se importante desenvolver novos derivados dos méis de abelha classificados como de mesa ou de uso industrial, visto que estes podem representar um novo nicho econômico para os produtores apícolas. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade de produção de uma bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo, bem como estudar o seu processo fermentativo. Para o processo fermentativo utilizou-se um planejamento experimental 2² com 4 pontos centrais, tendo como variáveis independentes os sólidos solúveis totais e a concentração de levedura e variável dependente o teor alcoólico do fermentado. O mel de abelha utilizado no processo fermentativo foi caracterizado quanto a sua acidez total, pH, açúcares redutores, sólidos solúveis totais, teor de água e de cinzas. De acordo com os resultados obtidos verificou-se que somente a interação dos sólidos solúveis totais foi a variável de influência na fermentação alcoólica. Quanto à caracterização físico-química verificou-se que os parâmetros avaliados encontram-se na faixa de valores estabelecidos. Em vista de se obter maiores percentuais de conversão, recomendam-se estudos mais contundentes acerca da levedura utilizada no processo de fermentação alcoólica do mosto de mel de abelha. Por fim, foi possível comprovar a viabilidade técnica da produção de uma bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo como uma excelente alternativa na renda dos produtores apícolas tanto do Alto Sertão Paraibano, como também do Nordeste.

Palavras-chave: hidromel, planejamento experimental, bebida frisanter

FERMENTATION PROCESS OF MIXED ALCOHOLIC DRINK OF HONEY AND HOP

ABSTRACT

The honey bee is a widely known product, being mostly produced to be marketed as table honey. However, for the honey to be marketed in such a way, you must meet strict quality criteria. One that does not meet these criteria may be tapped for industrial purposes. In this context, it is important to develop new derivatives of bee honey classified as table or industrial use, as these may represent a new economic niche for beekeepers. Thus, the aim of this study was to evaluate the feasibility of producing a mixed alcoholic drink of bee honey and hops as well as studying its fermentation process. For the fermentation process used a 2² experimental design with four central points, having as independent variables total soluble solids and the yeast concentration and variable dependent on the alcohol content of fermented. The honey used in the fermentation process was characterized as its total acidity, pH, reducers, total soluble sugar solids, water content and ashes. According to the results obtained it was found that only the interaction of soluble solids was variable influence on the fermentation. As for the physicochemical characterization it was found that the evaluated parameters are in the range of set values. In order to obtain higher rates of conversion are recommended most damning studies on the yeast used in the process of alcoholic fermentation of the honey mash. Finally, it was possible to prove the technical feasibility of producing a mixed alcoholic drink of bee honey and hops like an excellent alternative in the income of beekeepers both the high backlands of Paraíba, as well as the northeast.

Keywords: mead, experimental design, sparkling metheglin

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANOVA – Análise de variância

APPCC – Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle

AR – Açúcares redutores

CCTA – Centro de Ciência e Tecnologia Agroalimentar

DNS – Ácido 3,5 Dinitro Salicílico

EMATER – Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural

HMF – Hidroximetilfurfural

IAL – Instituto Adolfo Lutz

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MERCOSUL – Mercado Comum do Sul

NR – Não Regulamentado

P – Concentração final de produto (g/L)

P_0 – concentração inicial de produto (g/L)

Prod – Produtividade

Q_p – quantidade de álcool produzida (p/v);

S – concentração final de substrato (g/L)

SEBRAE – Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas

SST – Sólidos Solúveis Totais

S_0 – concentração inicial de substrato (g/L)

UATA – Unidade Acadêmica de Tecnologia de Alimentos

UFMG – Universidade Federal de Campina Grande

t – Tempo de fermentação (h)

X – concentração final de biomassa (g/L)

X_0 – concentração inicial de biomassa (g/L)

$Y_{x/s}$ – Rendimento de biomassa com relação ao substrato

$Y_{p/s}$ – Rendimento de produto com relação ao substrato

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação clássica de uma cinética fermentativa idealizada, através dos perfis das curvas: X, P e S.....	29
Figura 2 – Fluxograma de elaboração de bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo.....	34
Figura 3 – Reatores utilizados na fermentação alcoólica.....	35
Figura 4 – Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre o teor alcoólico.....	40
Figura 5 – Gráfico da probabilidade normal dos resíduos obtidos nos experimentos.....	42
Figura 6 – Curva de contorno obtida para o teor alcoólico no processo fermentativo da bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo.....	43
Figura 7 – Perfil da variação do pH do mosto no processo fermentativo da bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo.....	44
Figura 8 – Curvas de acidez total titulável obtido no processo de fermentação alcoólica.	45
Figura 9 – Cinética fermentativa referente aos experimentos do planejamento experimental.....	46
Figura 10 – Cinética fermentativa referente ao ponto central (experimentos 05 e 07).....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química aproximada do mel de abelha.....	19
Tabela 2 – Parâmetros de qualidade físico-química do mel de abelha.....	22
Tabela 3 – Composição do lúpulo.....	27
Tabela 4 – Níveis reais e codificados das variáveis de entrada empregados na fermentação alcoólica do mel de abelha.....	33
Tabela 5 – Caracterização físico-química do mel para a bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo.....	37
Tabela 6 – Matriz do planejamento com os valores reais das variáveis e resultados.....	39
Tabela 7 – Análise de variância simplificada para o processo fermentativo.....	41
Tabela 8 – Resultados do percentual de conversão do processo fermentativo da bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo.....	49

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	16
2.1. Objetivo Geral.....	16
2.2. Objetivos Específicos.....	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1. Mel de Abelha.....	17
3.1.2. História do Mel.....	17
3.1.3. Definição e Classificação.....	18
3.1.4. Composição do mel e requisitos para a análise de qualidade.....	19
3.1.4.1. Características Sensoriais.....	21
3.1.4.2. Características Físico-Químicas.....	22
3.1.5. Microbiota do Mel de Abelha.....	23
3.1.6. Produtos derivados do mel de abelha.....	25
3.2. Lúpulo.....	26
3.3. Fermentação Alcoólica.....	27
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
4.1. Matéria-Prima.....	32
4.2. Local dos experimentos.....	32
4.3. Caracterização da matéria-prima.....	32
4.4. Planejamento experimental.....	32
4.5. Processo fermentativo.....	34
4.6. Caracterizações físicas e físico-químicas do fermentado.....	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
5.1. Caracterização do mel.....	37
5.2. Planejamento experimental.....	39
5.3. Processo cinético fermentativo.....	44
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	50
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	51
8. REFERÊNCIAS.....	52

1. INTRODUÇÃO

O mel é um dos alimentos mais antigos ligado à história humana, e desde então tem sido amplamente utilizado, principalmente, na alimentação, sendo muito apreciado pelo seu sabor característico, sendo, provavelmente uma das primeiras fontes de açúcar conhecidas pelo homem (OSTERKAMP, 2009).

No Brasil, a produção comercial de mel está ligada à apicultura, cuja história teve início em 1839, com enxames trazidos pelos imigrantes europeus, contudo somente com a introdução de abelhas africanas, em meados de 1956, a atividade apícola foi disseminada no Brasil com o cruzamento das duas populações, produzindo um híbrido conhecido hoje de abelhas africanizadas (KERR, 1980).

O Brasil possui um grande potencial apícola, em virtude de sua flora ser bastante diversificada, por sua extensão territorial e pela variabilidade climática existente, permitindo a produção de mel o ano todo, diferenciando-o dos demais países que, normalmente, colhem o mel uma vez por ano (OLIVEIRA, 2006; ALMEIDA FILHO *et al.*, 2011). De acordo com o Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE), (2010) o país produz em média 40.000 toneladas de mel por ano, sendo grande parte destinada a exportação, principalmente para a Europa e EUA.

Em nível regional, a produção nordestina está em ascensão. De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), entre 1999 e 2005 atingiu 10,9 mil toneladas e alcançou o segundo lugar, em comparação com a região Sul, que ocupa, tradicionalmente, o primeiro lugar, com 15,8 mil toneladas de mel. Tal fato refletiu-se em 2009, quando a região Nordeste foi responsável pela produção de 14,9 mil toneladas de mel do Brasil, mantendo o segundo lugar e aproximando-se da região Sul, que produziu 16,5 mil toneladas de mel (IBGE, 2009).

Na Paraíba, apesar da região sofrer algumas intempéries do clima, como chuvas escassas, clima seco e elevada temperatura, é notável o crescimento e o espaço que a apicultura vem ocupando no sertão do Estado. De acordo com Silva (2013), em anos com precipitação pluviométrica normal, calcula-se existir em atividade aproximadamente 20 (vinte) mil colmeias, produzindo 400 toneladas de mel anualmente. Há 1.327 apicultores, dos

quais 637 assistidos pela Emater-Paraíba (Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural da Paraíba), com 3.332 apiários, sendo 1.307 acompanhados pela extensão rural.

Os números mostram que a apicultura é uma atividade bastante atrativa e que seu desenvolvimento é notável, porém o mel deve atender aos inúmeros critérios de qualidade e certificações, antes de sua comercialização e exportação, já que está sujeito a fraudes, adulteração e contaminação por manipulação inadequada (SILVA *et al.*, 2008).

O mel de abelha é um produto amplamente conhecido e comercializado no mundo (SEBRAE, 2007), sendo na sua grande maioria produzido para ser comercializado como mel de mesa. Todavia, para que o mel possa ser comercializado como mel de mesa, o mesmo deve atender a rigorosos critérios de qualidade e certificações estabelecidos pela Instrução Normativa (IN) Nº 11, de 20 de outubro de 2000, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, (MAPA), sendo que o mel que não atender os parâmetros estabelecidos para mel de mesa, poderá ser aproveitado para fins industriais.

Dentro deste contexto, torna-se importante desenvolver novos derivados dos méis de abelha classificados como de mesa ou de uso industrial, visto que estes podem representar um novo nicho econômico para os produtores apícolas do Alto Sertão Paraibano, como também do Nordeste.

Diversos derivados do mel de abelha podem ser obtidos, dentre os quais se destacam as bebidas não alcoólicas, sucos, néctares, etc., além das bebidas alcoólicas, por exemplo, espumantes, aguardente, bebidas mistas, entre outros. Tem-se ainda a possibilidade da implantação de pequenas unidades produtoras de vinagre.

Um dos derivados do mel de abelha, que possui viabilidade técnica e econômica é o hidromel e seus produtos correlatos (bebidas mistas), os quais podem ser obtidos a partir da fermentação alcoólica do mosto de mel de abelha diluído em água, com ou sem adição de especiarias ou frutos, por meio da ação de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*. O hidromel e seus produtos correlatos são amplamente apreciados por consumidores das regiões Sul e Sudeste do país, tendo uma produção ainda sutil, mas com grande potencialidade econômica para os produtores apícolas.

As bebidas mistas são atualmente objeto de considerável atenção pelo seu potencial de mercado, com uma série de vantagens, tais como a combinação aromas e sabores,

possibilitando a criação de novos sabores, cores, texturas e aromas exóticos, características essas exigidas pelo público para o qual estas bebidas são direcionadas; aumento do valor nutricional; além de estímulo ao desenvolvimento do setor produtivo com a elaboração de novos produtos. O lúpulo pode ser usado como aditivo ou especiaria, dentre muitos, podendo ser adicionado na produção de bebidas mistas como reforço de paladar, conferindo às mesmas, sabor e aroma diferenciados.

Contudo, sobre o processo fermentativo do mosto de mel de abelha, poucos estudos são conduzidos de forma a estabelecer quais métodos de fermentação são mais eficientes, tipos de reatores e como as variáveis do processo de fermentação alcoólica afetam a fermentação alcoólica do mosto de mel de abelha, exigindo assim estudos mais contundentes.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a viabilidade de produção de uma bebida mista de mel de abelha e lúpulo, bem como estudar o processo fermentativo, visando à produção de uma bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo.

2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar físico-quimicamente o mel de abelha;
- Produzir uma bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo;
- Estudar o processo fermentativo utilizando planejamento experimental visando à otimização do processo;
- Identificar as condições otimizadas para a obtenção de uma bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo, com diferentes teores alcoólicos;

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Mel de Abelha

3.1.2. História do Mel

Por se tratarem de uma rica fonte de alimento, os produtos apícolas despertam o interesse humano desde o início das civilizações. O testemunho mais antigo do aproveitamento desses produtos é fornecido pelas pinturas rupestres datadas de mais de 7000 anos a.C. encontradas na Cova da Aranha, em Valência, Espanha. Nessas pinturas, observam-se figuras humanas coletando os favos de colônias alojadas em cavidades rochosas e abelhas voando ao seu redor (PEREIRA *et al.*, 1994).

O mel é o produto apícola mais fácil de ser explorado, sendo também o mais conhecido e com maiores possibilidades de comercialização (FREITAS, KAHAN, SILVA, 2004; SEBRAE, 2009; SILVA, 2007). Inicialmente era extraído de forma extrativista e predatória, o que causava danos ao meio ambiente, matando as abelhas, mas com o decorrer do tempo, o homem foi aprendendo a manejar os enxames de forma sustentável, sem causar prejuízos às abelhas (PEREIRA *et al.*, 2003).

A apicultura no Brasil foi iniciada no período de colonização com a inserção das abelhas europeias *Apis mellífera* no Estado do Rio de Janeiro em 1839, realizada pelo Padre Antônio Carneiro, no entanto, os principais avanços ocorreram com a introdução das abelhas africanas (*Apis mellífera scutellata*) em 1956, que culminou na africanização das demais subespécies existentes no país (PIRES, 2011).

De acordo com Vargas (2006), devido à alta demanda internacional do produto e os preços favoráveis à exportação, a atividade apícola no Brasil, que antes era voltada apenas para o mercado interno, deixou de ser artesanal, para tornar-se empresarial, com técnicas mais elaboradas e produtivas, voltadas para o mercado externo.

A produção de mel de qualidade deve estar de acordo com as exigências do mercado nacional e internacional. (SOUZA, 2006; PASIN; TERESO, 2008). Entretanto, o Brasil vive um paradoxo entre o rigor e o cumprimento da Legislação Brasileira (BRASIL, 2000), que regulamenta o padrão de qualidade e identidade do mel comercializado e estabelece limites

que atuam na exclusão de méis que sofreram alguma adulteração ou práticas inadequadas (VILELA, 2000; AROUCHA *et al.*, 2008).

3.1.3. Definição e Classificação

De acordo com a Instrução Normativa n°. 11 de 20 de outubro de 2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), mel é o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colmeia (BRASIL, 2000).

O mel pode ser classificado quanto à sua origem em mel floral ou mel de melato. O mel de flores ou floral é obtido dos néctares das flores. O mel de melato é formado a partir de secreções de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que se encontram sobre elas. O mel também pode ser classificado de acordo com o procedimento de extração do favo em: mel escorrido, mel prensado e mel centrifugado, bem quanto a sua apresentação comercial em: mel líquido, mel em favos, mel com pedaços de favo, cristalizado, mel cremoso e mel filtrado (BRASIL, 2000; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001).

O mel floral ainda pode ser classificado em mel unifloral ou monofloral, quando o produto procede principalmente da origem de flores de uma mesma família, gênero ou espécie e possua características sensoriais, físico-químicas e microscópicas próprias; ou mel multifloral ou polifloral, quando é obtido a partir de diferentes origens florais (BRASIL, 2000).

Segundo Campos *et al.* (2003), o mel de melato difere do mel floral pela razão de possuir menor teor de glicose, razão pela qual usualmente não cristaliza; menor teor de frutose, maior teor de cinzas, maior pH e maior teor de nitrogênio.

3.1.4. Composição do mel e requisitos para a análise de qualidade

De acordo com a Instrução Normativa (IN) 11, de 20 de outubro de 2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o mel é uma solução concentrada de açúcares com predominância de glicose e frutose (BRASIL, 2000). Segundo Barth *et al.* (2005) a predominância desses monossacarídeos perfazem cerca de 70% do total de carboidratos encontrado nesse alimento. No entanto, Finola, Lasagno e Marioli (2007) afirmaram que esses monossacarídeos variam de 85% a 95% da totalidade da composição de glicídios no mel, sendo a água o segundo maior componente no mel. Os dissacarídeos maltose e sacarose também estão presentes, no entanto, em pequenas quantidades (SNOWDON & CLIVER, 1996). A Tabela 1 apresenta a composição química aproximada do mel de abelha.

Tabela 1 – Composição química aproximada do mel de abelha.

Nutrientes	Componentes presentes em 100g de mel
Água	17,1 g
Carboidratos (totais)	82,4 g
Frutose	38,5 g
Glicose	31 g
Maltose	7,2 g
Sacarose	1,5 g
Proteínas, Aminoácidos, Vitaminas e Minerais	0,5 g
Energia	304 Kcal

Fonte: VENTURINI; SARCINELLI; SILVA, 2007.

Além dos açúcares, o mel contém ainda uma mistura de enzimas, vitaminas, aminoácidos, minerais, substâncias bactericidas e aromáticas, ácidos orgânicos, ácidos fenólicos, flavonoides e grãos de pólen, bem como outros ingredientes, como a cera de abelhas procedentes do processo de extração, o que confere ao mel características como a cor, odor e sabor (KOMATSU; MARCHINI; MORETI, 2002; SOUZA *et al.*, 2008).

O mel contém cerca de 0,5% de proteínas provenientes do néctar e pólen da planta e das secreções das glândulas salivares das abelhas. Uma pequena parte das proteínas do mel são enzimas, nas quais se incluem as invertase, diastase, glucose oxidase, catalase, α -glucosidase, β -glucosidase e amilase (WHITE; DONER, 1980). Em termos de composição de

aminoácidos, a prolina é o principal aminoácido encontrado, representando 80 a 90% da quantidade total (MOREIRA *et al.*, 2007).

Normalmente os méis contêm uma variedade de substâncias minerais e micronutrientes, e a quantidade absoluta destes varia entre 0,02 a 1,0% (LACHMAN *et al.*, 2007). Fernández-Torres *et al.*, (2005) avaliou o teor mineral de mel de diferentes origens botânicas, e concluiu que o potássio, o cálcio e o fósforo são os elementos mais abundantes.

Embora em concentrações ínfimas, vitaminas, tais como: B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, C e D também são encontradas no mel, sendo facilmente assimiláveis pela associação a outras substâncias como os carboidratos, sais minerais, oligoelementos, ácidos orgânicos e outros (CRANE, 1985).

Os ácidos orgânicos constituem cerca de 0,6 % do mel (OLAITAN *et al.*, 2007). Estes compostos são responsáveis por conferir acidez ao mel e por contribuírem para o seu sabor característico (ANKLAM, 1998), sendo o ácido glucônico o mais representativo. Em menor quantidade podem ainda encontrar-se os ácidos fórmico, butírico, acético, málico, pirúvico, succínico e cítrico (PEREIRA, 2007).

A composição do mel é bastante variável, pois depende de vários fatores, como por exemplo, das fontes vegetais de onde é derivado, solo, espécie da abelha que o produz, estado fisiológico da colônia, estado de maturação do mel, condições meteorológicas, entre outros (ALVES *et al.*, 2005). Essa dependência é refletida na cor, no sabor, no odor e nas características físico-químicas dos méis (SILVA *et al.*, 2009a). No entanto, estas características também podem ser modificadas adicionando em sua composição substâncias de menor valor comercial e nutritivo (RIBEIRO *et al.*, 2009). As análises físico-químicas de méis contribuem para o controle de qualidade e para a fiscalização dos mesmos (SILVA *et al.*, 2009c). De acordo com Marchini (2001), os resultados destas análises devem ser comparados com padrões citados por órgãos oficiais internacionais, ou com os estabelecidos pelo próprio país, protegendo o consumidor de adquirir um produto adulterado.

Os requisitos estabelecidos pela legislação brasileira para o controle de qualidade do mel estão categorizados em três segmentos: 1) características sensoriais: cor, sabor e aroma, consistência; 2) características físico-químicas: maturidade (açúcares redutores, umidade, sacarose aparente), pureza (sólidos insolúveis em água, minerais ou cinzas, pólen), e

deterioração (acidez livre, atividade diastásica, hidroximetilfurfural - HMF) e 3) acondicionamento (BRASIL, 2000).

3.1.4.1. Características Sensoriais

Segundo a IN N° 11 de 20 de outubro de 2000, a cor do mel é um dos parâmetros das características sensoriais e pode variar de quase incolor a parda escura (BRASIL, 2000). Os méis de cor clara têm normalmente um teor de cinzas mais baixo que os méis de cor escura (FINOLA; LASAGNO; MARIOLI, 2007). Para Crane (1985), a cor do mel é considerada um indicador de qualidade do mel, já que associa o escurecimento do produto ao armazenamento, às condições de temperaturas elevadas, assim como à contaminação com metais. A determinação da cor do mel também pode ser utilizada na identificação da sua origem floral (BERTONCELJ *et al.*, 2007).

O sabor e o aroma devem ser característicos conforme a sua origem (BRASIL, 2000). Atribui-se geralmente um sabor menos intenso aos méis claros e, por isso, estes têm maior valor comercial do que méis escuros (GONZALES *et al.*, 1999). O sabor do mel, excetuando-se a doçura, está relacionado com o aroma, que depende de quantidades diminutas de substâncias complexas, derivadas das fontes florais. Assim, méis diferentes possuem aroma e sabor diferentes, e pessoas treinadas podem identificar méis provenientes de uma fonte, pelo seu aroma e sabor (ODDO; PIANA; SABATINI, 1996). Segundo Alves, Della Modesta e Silva (2005), a análise sensorial é a ferramenta mais indicada para avaliar esses parâmetros, pois utiliza a habilidade que o ser humano tem de comparar, diferenciar e quantificar os atributos de qualidade.

De acordo com a legislação brasileira, o mel pode ter sua consistência de acordo com o estado físico em que se apresenta e/ou processamento ao qual foi submetido, podendo ser classificado em cristalizado ou granulado quando um processo natural de solidificação, como consequência da cristalização dos açúcares; e cremoso quando o mel tem estrutura cristalina fina e pode ter sido submetido a um processo físico, lhe conferindo essa estrutura (BRASIL, 2000).

3.1.4.2. Características Físico-Químicas

Os limites estabelecidos nas normas vigentes (BRASIL, 2000) para os parâmetros de qualidade físico-química do mel de abelha podem ser verificados na Tabela 2. Os mesmos foram estabelecidos como requisitos para a comercialização nacional e internacional.

Tabela 2 – Parâmetros de qualidade físico-química do mel de abelha.

Parâmetro	Especificações	
	Mel Floral	Mel de Melato
Açúcares Redutores (%)	Mínimo 65	Mínimo 60
Sacarose Aparente (%)	Máximo 6	Máximo 15
Umidade (%)	Máximo 20	Máximo 20
Sólidos Insolúveis (%)	Máximo 0,1	Máximo 0,1
Acidez (meq.kg ⁻¹)	Máximo 50	Máximo 50
Minerais (%)	Máximo 0,6	Máximo 1,2
Atividade Diastásica (escala Gothe)	Mínimo 8; ou 3 se HMF inferior a 15	Mínimo 8; ou 3 se HMF inferior a 15
Hidroximetilfurfural	Máximo 60	Máximo 60

Fonte: BRASIL, 2000.

Além de conferir a doçura, os açúcares são responsáveis também pelo poder higroscópico, capacidade e conservação do produto, pela cor e sabor do mel, além da cristalização, determinada pelas relações de frutose/glicose (F/G) e glicose/água (G/A). Méis com altos teores de frutose ou com baixa relação glicose/água não cristalizam facilmente (MOLAN, 1992; MOREIRA; DE MARIA, 2001). Um elevado teor de sacarose no mel significa na maioria das vezes uma colheita prematura do mel, ou seja, um produto em que a sacarose ainda não foi totalmente transformada em glicose e frutose pela ação da invertase (AZEREDO *et al.*, 2009). Pode indicar, ainda, uma adulteração do mel (SODRÉ *et al.*, 2007).

A água é considerada uma das características mais importantes por influenciar em várias características do mel, como a viscosidade, peso específico, maturidade, sabor e cristalização (SILVA *et al.*, 2010). Valores de umidade abaixo de 20% são considerados adequados para assegurar a ausência de fermentação (WELKE *et al.*, 2008), visto que microrganismos osmofílicos provocam a sua fermentação em amostras com alta umidade.

Os sólidos insolúveis em água correspondem a grãos de pólen, partículas de cera, assim como componentes normais resultantes do sedimento do mel. A realização desta análise permite detectar as impurezas presentes no mel tornando-se uma importante medida de controle higiênico (SILVA *et al.*, 2006). Normalmente nos méis de abelha são encontrados diferentes elementos químicos e minerais; entretanto, valores acima 0,6% em méis florais estabelecido pela legislação vigente (BRASIL, 2000) são considerados indicadores de contaminação.

O mel contém ácidos que contribuem para sua proteção contra microrganismos, sendo o glucônico o mais comum, formado pela ação da enzima glucose-peroxidase (SEEMANN; NEIRA, 1988). Entretanto, valores elevados de acidez (BRASIL, 2000) podem indicar, além de uma possível deterioração do mel, fermentação dos açúcares causados principalmente, por leveduras xerotolerantes, que em condições favoráveis de umidade e atividade de água induzem o processo de fermentação no produto, aumentando a sua acidez, e conseqüentemente, reduzindo o pH (FINOLA; LASAGNO; MARIOLI, 2007; FRANCO; LANDGRAF, 2002).

No mel, o índice diastásico e o HMF estão relacionados com a sua qualidade, frescura e com o processamento térmico, mas normalmente não são associados com a origem das amostras (ANKLAM, 1998). A ausência da enzima diastase reflete procedimentos e/ou adulterações realizadas no mel, tal como uso de temperatura acima de 60°C durante o beneficiamento, adição de açúcar invertido, condições de armazenamento inadequadas (AROCHA *et al.*, 2008). Níveis muito altos de HMF podem indicar alterações provocadas por armazenamento prolongado em condições inadequadas e superaquecimento (MARCHINI; MORETI; OTSUK, 2005; SILVA; QUEIROZ; FIGUEIRÊDO, 2004). Dessa forma, de um mel de alta qualidade espera-se que tenha uma atividade diastásica alta, mas um baixo teor de HMF (ANKLAM, 1998).

3.1.5. Microbiota do Mel de Abelha

O mel quando comparado com outros produtos de origem animal, apresenta uma baixa microbiota, porém não é um alimento estéril e está susceptível a contaminações pela manipulação inadequada (GOMES *et al.*, 2005).

As fontes de microrganismos no mel podem ser classificadas em primárias e secundárias. As fontes primárias de contaminação microbiana incluem o pólen, o tracto digestivo das abelhas, o pó, o ar, a sujidade e as flores (SNOWDON E CLIVER, 1996; OLAITAN *et al.*, 2007). As fontes secundárias de contaminação podem estar relacionadas com a manipulação incorreta, uso de materiais mal higienizados, locais inapropriados pela incidência do vento, presença de insetos e permanência de animais domésticos e de estimação (SNOWDON; CLIVER, 1996).

Os microrganismos encontrados no mel podem ser divididos em três categorias: (1) microrganismos que são encontrados normalmente no mel (certas estirpes de leveduras e bactérias formadoras de esporos); (2) microrganismos indicadores da qualidade sanitária ou comercial (coliformes ou leveduras); e (3) microrganismos que em determinadas condições (por exemplo, germinação e crescimento num produto não tratado termicamente), podem causar doenças (SNOWDON; CLIVER, 1996).

Os principais microrganismos encontrados no mel são as leveduras, os fungos filamentosos e as bactérias esporuladas. Estes estão envolvidos em atividades de deterioração, produção de enzimas, toxinas, conversão metabólica e inibição de microrganismos competidores (SILVA *et al.*, 2008). A existência de alguns microrganismos no mel é considerada como contaminantes dentro de programas de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), com exceção dos bolores e leveduras que em condições normais de umidade, não interferem na qualidade do mel (PEREIRA *et al.* 2003).

As leveduras mais encontradas em mel são osmófilas, das espécies *Saccharomyces*, *Torulopsis*, e *Zygosaccharomyces lentus*. Todas possuem atividade fermentativa e são capazes de crescer em altas concentrações de açúcares (FRANCO; LANDGRAF, 2002). Quanto aos bolores, são comuns os pertencentes aos géneros *Penicillium*, *Mucor* e *Aspergillus*. Estes microrganismos podem sobreviver, mas não se reproduzem no mel. No entanto, contagens elevadas podem indicar uma contaminação recente pelo ambiente de recolha da abelha, colmeia ou equipamento de processamento (SNOWDON E CLIVER, 1996; FINOLA; LASAGNO; MARIOLI, 2007).

A quantidade de bactérias presente no mel pode variar com o seu tipo, tipo da amostra, idade, tempo de colheita e técnica de análise utilizada (MATUELLA; TORRES, 2000). O grupo coliforme é composto por bactérias basicamente dos géneros *Escherichia*, *Klebsiella*,

Citrobacter, *Serratia*, *Erwinia*, e *Enterobacter* e quando encontrados no mel, indicam condições higiênicas impróprias, com provável contaminação durante as etapas de produção, beneficiamento e armazenamento (JAY, 2005). Dentre os demais gêneros, a mais estudada é a *Escherichia coli* (JAY, 2005; FRANCO; LANDGRAF, 2002).

Ainda com relação às bactérias têm se dado importância ao *Clostridium botulinum* causador do botulismo infantil, que é um tipo severo de intoxicação alimentar. As crianças com idade inferior a um ano são as mais susceptíveis ao desenvolvimento da doença devido à imaturidade da flora intestinal, ao ingerir alimento contendo esporos, permite a germinação, multiplicação e produção de neurotoxina botulínica no intestino infantil (SOLOMON; LILLY, 2001; ARNON *et al.*, 1981).

Contudo, as legislações brasileiras e as internacionais vigentes (BRASIL, 2000; BRASIL, 2001; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; MERCOSUL, 1999) não contemplam análises microbiológicas em mel. São estabelecidas apenas, práticas de higiene durante a elaboração do produto e ausência de substâncias estranhas.

3.1.6. Produtos derivados do mel de abelha

O mel industrialmente é utilizado como aditivo em diferentes ramos da indústria de alimentos, de aditivos, médica, farmacêutica e cosmética. Matsuda e Sabato (2004) afirmam que o mel é bem aceito em preparações como condimentos, temperos para saladas, na indústria de laticínios, carnes, bebidas, doces e produtos confeitados.

Entre os produtos mais conhecidos obtidos a partir do mel, estão o vinagre de mel e o hidromel (vinho de mel). De acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 1999) fermentado acético de mel de abelha ou vinagre de mel de abelha, é o produto obtido pela fermentação acética do fermentado originário do mel de abelha.

O hidromel é uma das bebidas mais antigas consumidas pelo homem, talvez mesmo antes do vinho e é provavelmente a precursora da cerveja (PEREIRA, 2008). Existem diversas variações desta bebida em relação ao seu processo de produção que são o melomel; hidromel com adição de frutas; metheglin, hidromel com adição de ervas e/ou especiarias; e o capsicumel, hidromel com adição de pimenta (GOMES, 2008). Segundo Fernandes (2009) a produção do hidromel possibilita a obtenção de um produto com maior valor agregado,

tornando-se uma nova alternativa de renda aos apicultores. Costa (2014) ao estudar a cinética de fermentação do mel de abelha concluiu que o fermentado produzido pode ser utilizado na produção de hidromel, fermentado acético e aguardente de mel de abelha.

De acordo com Crane (1985) o mel é um ingrediente versátil e altamente fermentescível, com sabor e aroma característicos, promovendo um sabor diferenciado à bebida ou alimento. Devido a esses atributos, é uma matéria-prima ideal para a fabricação de cerveja (KUNZE, 2006). A adição de mel em cerveja proporciona uma bebida menos encorpada e aumenta a quantidade de álcool, além de uma sensação alcoólica suave se comparada à cerveja com açúcar comum (SMITH, 2009). Brunelli (2012) afirma que o uso de mel na formulação das cervejas promove o aumento da carbonatação e da densidade de espuma, bem como a diminuição da turbidez, cor, acidez e amargor.

Melo *et al.* (2014) elaboraram uma aguardente de mel de abelha *Apis mellifera* de acordo com a florada típica do sertão paraibano e concluíram que o produto é uma alternativa viável para o aproveitamento dos méis, que além de serem comercializados na sua forma original, podem ser transformados em produtos derivados, reduzindo os custos da atividade e viabilizando a apicultura.

Uma tendência atual do mercado brasileiro é o desenvolvimento de produtos a partir dos méis que não atendem a legislação brasileira por completo. Nesse sentido, Campos (2011) estudou os parâmetros fermentativos na obtenção de aguardente de mel de abelha e obteve resultados positivos quanto a elaboração e a aceitação do produto.

3.2. Lúpulo

O *Humulus lupulus* L., conhecido vulgarmente com lúpulo é uma espécie herbácea perene e dióica da família Cannabaceae, de grande valor econômico na indústria cervejeira (HEALE *et al.*, 1989). As resinas e os óleos essenciais (lupulina), presentes em glândulas das flores femininas dessa planta, são responsáveis respectivamente pelo amargor e o aroma, característico das cervejas (HOUGH, 1985).

O lúpulo pode ser usado como aditivo ou especiaria, dentre muitos, podendo ser adicionado na produção de bebidas mistas como reforço de paladar, conferindo às mesmas, sabor e aroma diferenciados. Em alguns países da Europa, Ásia e América do Norte, o lúpulo

é utilizado na elaboração de uma bebida denominada “*metheglin*”, classificada como um tipo de hidromel adicionado de ervas e temperos.

O lúpulo atua também, como antisséptico apresentando efeito bacteriostático e contribui para a coagulação de proteínas, para a estabilidade do sabor e para a retenção de espuma na cerveja acabada (GRANT, 1977). Os responsáveis pela coagulação das proteínas são os taninos que estão presentes naturalmente no lúpulo. Na Tabela 3 se encontra a composição do lúpulo.

Tabela 3 – Composição do lúpulo.

Componentes do Lúpulo	Efeito
Taninos e polifenóis	Coagulação protéica
Substâncias amargas	Amargor
Óleos essenciais	Aroma

Fonte: TSCHOPE, 2001.

O lúpulo pode ser comercializado na forma de flores secas (in natura), em pellets ou em extratos, podendo ser tradicionalmente classificado conforme suas características predominantes como lúpulos aromáticos e de amargor (SEIDL, 2003). Os pellets e o extrato são mais concentrados e facilmente armazenados e manipulados (VENTURINI FILHO, 2000).

3.3. Fermentação Alcoólica

A fermentação alcoólica é o processo de oxidação anaeróbica da glicose por ação de leveduras, com a produção final de álcool etílico e gás carbônico, além de outros produtos secundários (SILVA, 2009), podendo se dividir em três fases: uma preliminar que é de adaptação da cultura ao meio, outra tumultuosa e, a fase complementar que é o fim da fermentação (CORAZZA *et al.*, 2001). Na fase de fermentação principal ou tumultuosa ocorre uma intensa produção de álcool e liberação de CO₂ acompanhada de um aumento da temperatura, a qual deve ser controlada por resfriamento; progressivo aumento de espumas e elevação da acidez do mosto.

A fermentação principal cessa quando diminui a liberação de gás e, conseqüentemente, a turbulência característica do mosto (ALCARDE, 2011). Já na

fermentação final, a formação de bolhas começa a diminuir e a temperatura cai vagarosamente, porém ainda com pequeno desprendimento de gás carbônico. Esta fase termina quando ocorre uma paralisação total do desprendimento de gás carbônico e o retorno da temperatura ambiente (CARDOSO, 2006; RODRIGUES FILHO e OLIVEIRA, 1999).

Há várias maneiras de se conduzir a fermentação. O reator biológico pode ser operado de forma descontínua, semicontínua, descontínua alimentada (ou batelada alimentada) ou contínua, todos podendo trabalhar com ou sem recirculação do fermento (SCHIMIDELL; FACCIOTTI, 2001). Atualmente no Brasil, a maior parte da produção industrial de álcool em grande escala, ocorre em processos fermentativos em batelada e contínuos, sendo que a denominação batelada na prática industrial se refere à batelada alimentada (PACHECO, 2010).

Os processos fermentativos já eram utilizados pelo homem há cerca de dez mil anos, quando as sociedades humanas descobriram como produzir alimentos a partir fontes de açúcar disponíveis na natureza. Dentre estes alimentos estão as bebidas alcoólicas, sendo o mel de abelha mediante o uso de sua microbiota natural, uma das primeiras fontes utilizadas em sua elaboração.

Atualmente as leveduras usadas na fermentação de bebidas elaboradas a partir do mel são normalmente, as estirpes utilizadas na produção de vinho, cerveja e champanhe. Dentre as inúmeras espécies de leveduras existentes, aquelas da espécie *Saccharomyces cerevisiae* são as mais conhecidas (LOUREIRO; MALFEITO-FERREIRA, 2003). No entanto, a maior parte destas leveduras não está adaptada às condições presentes no mosto de mel, tais como, níveis elevados de açúcar, valores de pH baixos e concentrações reduzidas de azoto. Além disso, fatores como os altos teores alcoólicos, a temperatura elevada, a presença de sulfito, a contaminação bacteriana e, mais raramente documentada, a contaminação com leveduras não *Saccharomyces*, podem afetar o crescimento destas leveduras durante a fermentação (BASSO, 1991; BASSO, 2004).

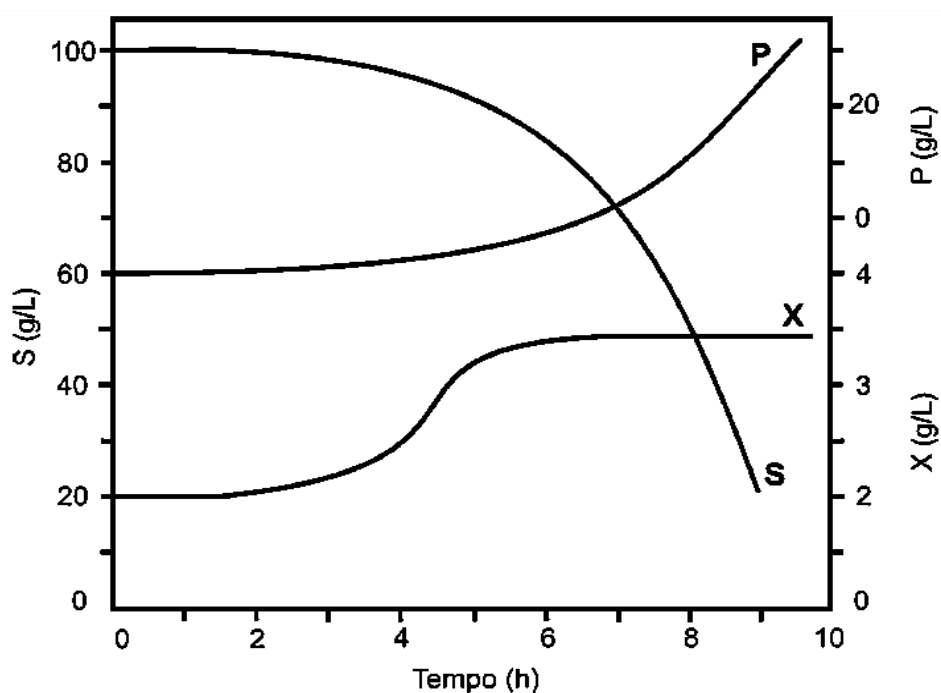
Devido ao elevado conteúdo em açúcares, o processo fermentativo do mosto de mel é bastante lento e necessita que o pH, a temperatura, a estirpe de levedura e os fatores de crescimento sejam os mais adequados. A identificação e eliminação dos fatores que diminuem a atividade celular podem tornar o processo de produção mais rápido, e assim reduzir os

custos (SROKA; TUSZYŃSKI, 2007), tornando-se necessário a realização de um estudo da cinética do processo.

O estudo da cinética dos processos fermentativos consiste inicialmente na análise da evolução dos valores de concentração de um ou mais componentes do sistema de cultivo, em função do tempo de fermentação. Entende-se por componentes o microrganismo ou concentração celular (X), os produtos do metabolismo (P) e os nutrientes ou substrato (S) que compõem o meio de cultura (BORZANI, 2001).

Os valores experimentais de concentração quando representados em função do tempo, permitirão traçar curvas de ajuste como na Figura 1 e poderão ser indicados por $X = X(t)$, $P = P(t)$ e $S = S(t)$.

Figura 1 – Representação clássica de uma cinética fermentativa idealizada, através dos perfis das curvas: X, P e S.



Considerando-se um tempo t de fermentação, tem-se que os correspondentes valores de X, S e P podem ser relacionados entre si, através dos fatores de conversão definidos nas

equações (1), (2) e (3), obtendo-se: a conversão de substrato em concentração celular ($Y_{x/s}$), substrato em produto ($Y_{p/s}$) e produtividade (Prod.), respectivamente.

$$Y_{x/s} = \frac{X - X_0}{S_0 - S} \quad (1)$$

$$Y_{p/s} = \frac{P - P_0}{S_0 - S} \quad (2)$$

$$\text{Prod} = \frac{Qp}{t} \quad (3)$$

Em que:

$Y_{x/s}$ – É a biomassa formada em relação à quantidade de substrato limitante consumido;

X – concentração final de biomassa (g/L);

X_0 – concentração inicial de biomassa (g/L);

S – concentração final de substrato (g/L);

S_0 – concentração inicial de substrato (g/L).

$Y_{p/s}$ – É o produto formado em relação à quantidade de substrato limitante consumido;

P – concentração final de produto (g/L);

P_0 – concentração inicial de produto (g/L);

Prod – produtividade (g/L.h);

Qp – quantidade de álcool produzida (p/v);

t – tempo total de fermentação (h).

De acordo com Silva (2009), deve-se observar também nos processos fermentativos, parâmetros físicos (temperaturas), parâmetros químicos (pH, sólidos solúveis totais) e biológicos (biomassa).

Na fermentação, um dos parâmetros de maior importância é a temperatura. Embora a levedura trabalhe bem entre temperaturas de 25°C e 30°C, valores de temperatura acima destes podem gerar o enfraquecimento das mesmas, criando boas condições para o aparecimento de outros microrganismos e ocasionando maiores perdas de álcool por evaporação (CARDOSO, 2006).

O pH é outro importante fator para o bom desenvolvimento da fermentação, pois ele influi tanto no crescimento quanto na formação de produto (HASHIZUME, 2001). Segundo Lima *et al.* (2001), os valores ótimos de pH geralmente se encontram na faixa de 4,5 a 5,5. Para Pelczar; Chang; Krieg (1997) para que ocorra um bom processo de fermentação o pH deve se encontrar em torno de 5 a 6, que é considerado um valor ótimo para o crescimento das leveduras. Ayub e Hertz, (2002) afirmam que na prática o pH deve sempre ser mantido ácido, visto que retarda a ação de bactérias do ambiente.

No que diz respeito aos sólidos solúveis, Nogueira (2005), descreve que o seu teor em um caldo a ser fermentado depende da natureza e da composição química da matéria-prima, devendo ser compatível com o tipo de levedura que será utilizada e com o processo empregado na fermentação alcoólica.

A viabilidade é sem dúvida um aspecto importante no controle da fermentação alcoólica. Quanto maior esse número melhor será o desempenho do processo. Aumentos da temperatura de fermentação produzem uma forte diminuição da viabilidade celular, devido ao aumento das taxas de produção e acúmulo de álcool no meio e nas células (STECKELBERG, 2001).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Matéria-Prima

Para a produção da bebida, a matéria-prima utilizada foi o mel de abelha africanizada (*Apis mellifera* L.) adquirido de produtores da Cidade de Catolé do Rocha – PB acondicionado em baldes de 20 L e armazenado a temperatura ambiente.

4.2. Local dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Operações Unitárias e Fenômenos de Transporte, Laboratório de Produtos Hortícolas, Laboratório de Análise de alimentos e Laboratório de Sementes da Unidade Acadêmica de Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Pombal, Paraíba.

4.3. Caracterização da matéria prima

O mel foi caracterizado quanto à acidez total titulável, pH, teor de cinzas, sólidos solúveis e teor de água determinados conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Os açúcares redutores foram quantificados pelo método descrito por Vasconcelos, Pinto e Aragão (2013), que trata da redução da glicose pelo composto ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS).

4.4. Planejamento experimental

O planejamento experimental fatorial tem o objetivo de obter um estudo mais abrangente da influência das variáveis de entrada sobre o sistema de forma mais organizada e em quantidade mínima de experimentos. Para isso, foram escolhidos níveis para cada variável, e com isso realizados ensaios, registrando as combinações. A listagem dessas combinações é chamada de matriz de planejamento (BARROS NETO *et al.*, 1995).

Visando avaliar os efeitos das variáveis de entrada (Concentração de levedura (g/L) e °Brix) sobre a resposta (Teor alcoólico (g/L) utilizou-se um planejamento experimental 2^2

composto por 4 pontos centrais, totalizando 8 experimentos, objetivando identificar o quanto um modelo de 1ª ordem (Equação 4) representa e descreve o comportamento dos dados experimentais obtidos.

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \varepsilon \quad (4)$$

Em que:

β_n – constantes do modelo

x_n – valores das variáveis independentes

y – variável dependente.

Na Tabela 4 estão apresentados, respectivamente, os níveis reais e codificados das variáveis de entrada estudados na elaboração da bebida alcoólica mista de mel e abelha e lúpulo. Os níveis reais foram estabelecidos mediante experimentos prévios.

Tabela 4 – Níveis reais e codificados das variáveis de entrada empregados na fermentação alcoólica do mel de abelha.

Variáveis de entrada	Níveis		
	-1	0	+1
°Brix	10	14	18
Concentração de levedura (g/L)	1	2,5	4,0

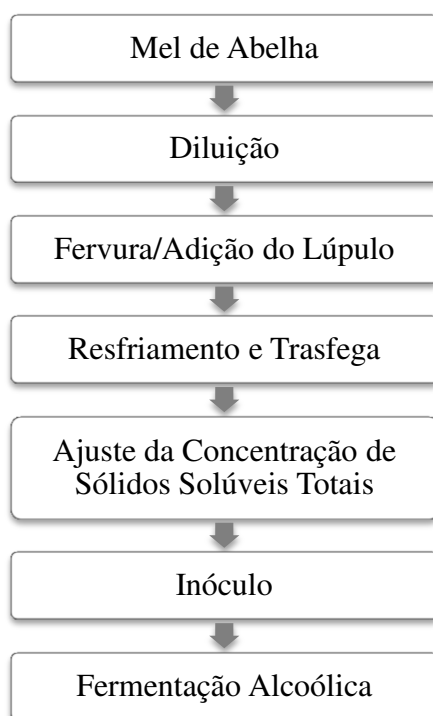
Para analisar estatisticamente os resultados obtidos utilizou-se o software Statistica v.5.0 (STATSOFT, 1997); através do qual foi possível obter o gráfico de Pareto, o modelo matemático para a representação dos dados experimentais, validar o modelo matemático por meio da análise de variância (ANOVA) e pelo gráfico de valores previstos versus valores observados, e gerar o gráfico de curvas de nível.

O gráfico de Pareto foi utilizado para avaliar os efeitos das variáveis sobre as respostas em estudo. A ANOVA dos modelos gerados valida se o mesmo representa e prediz com precisão o processo. Os gráficos de superfície de resposta e curvas de nível representam graficamente o modelo matemático obtido e indicam o perfil das variáveis independentes sobre as respostas em estudo. O modelo matemático ainda foi avaliado quanto à significância de sua regressão ao nível de 95% de confiança, ao coeficiente de determinação (R^2) e falta de ajuste (RODRIGUES e IEMMA, 2005).

4.5. Processo fermentativo

O fluxograma da Figura 2 mostra o processo de elaboração de bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo nas concentrações de sólidos solúveis totais de 10,14 e 18° Brix e de leveduras de 1, 2,5, e 4,0 g/L, conforme o planejamento fatorial aplicado.

Figura 2 – Fluxograma de elaboração de bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo.



Inicialmente para cada experimento, diluiu-se o mel de abelha em água potável da rede pública do município de Pombal, duplamente filtrada em filtro de carvão ativado tipo CIII, até atingir as concentrações de sólidos solúveis totais (SST) desejadas (10,14 e 18) e o volume de 20 litros para o ponto central e de 10 litros para os demais experimentos. Em seguida, as soluções obtidas foram fervidas individualmente a 100°C durante 60 minutos em fogão convencional, sendo que ao início da ebulição, foram adicionados 0,2 g/L de lúpulo aromático em péletes; e aos 45 minutos, 1 g/L de lúpulo amargor. Após esta etapa, os mostos foram resfriados e trasfegados para a separação do lúpulo decantado. Antes da inoculação foram ajustados os mostos para as concentrações de sólidos solúveis totais iniciais, visto que esses teores tendem a aumentar devido à evaporação oriunda da fervura.

Para a preparação do inóculo utilizou-se a levedura para vinho (*Saccharomyces cerevisiae*) da marca Blastosel-Delta® nas concentrações de acordo com o planejamento fatorial aplicado (1, 2,5 e 4,0 g/L) adicionadas de 0,5 g de nutriente, ativadas por duas horas em 200 mL de mosto em banho maria com uma temperatura estável de 35 °C. A levedura foi escolhida mediante experimentos prévios.

A fermentação foi conduzida em reatores de polipropileno de grau alimentício com capacidade máxima de 7,5 litros (Figura 3), hermeticamente fechados com válvula de fermentação, que permite a saída do gás carbônico e impede a entrada do oxigênio, mantidos a temperaturas controladas de 20 a 22° C e com pouca luminosidade. O volume de mosto empregado para cada experimento foi de 4,5 litros, aos quais foram retiradas alíquotas de 100 mL em potes esterilizados afim de acompanhamento do processo fermentativo, sendo a primeira retirada no início da fermentação (tempo zero), a seguinte com 12 horas e as demais a cada 24 horas, totalizando oito tempos e um tempo de fermentação de 144 horas. As alíquotas coletadas foram centrifugadas (exceto para contagem de células) e congeladas para posterior caracterização físico-química.

Figura 3 – Reatores utilizados na fermentação alcoólica.



Fonte: Autora

4.6. Caracterizações físicas e físico-químicas do fermentado

Para fins de controle de processo foram analisados os sólidos solúveis totais (°Brix), pH, acidez total titulável (%), crescimento celular (células/L), teor alcoólico (g/L) e açúcares redutores do processo (g/L).

A acidez total titulável foi determinada utilizando-se o método de acidez total titulável de acordo com (IAL, 2008). O teor de sólidos solúveis foi determinado pelo refratômetro analógico e o pH determinado por potenciômetro, calibrado periodicamente com soluções tampão de pH 4 e 7 (IAL, 2008). Os açúcares redutores foram quantificados pelo método descrito por Vasconcelos, Pinto e Aragão (2013), que trata da redução da glicose pelo composto ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). A concentração celular (biomassa) foi determinada adotando-se o método de contagem microscópica em câmara de Neubauer descrita por White (2010).

A determinação do teor alcoólico (mL de etanol/100mL da amostra) foi determinada por ebulliometria, método este que se baseia nas propriedades coligativas do mosto. O procedimento consiste na transferência de 25 mL da amostra diluída em 25 mL de água para a caldeira do ebuliômetro previamente calibrado com água destilada. A calibração com água destilada permite identificar a temperatura em que a água ferve sem a presença de etanol. Os resultados obtidos através do ebuliômetro foram corrigidos com a régua de conversão que acompanha o equipamento e multiplicados pelo fator de diluição. O aquecimento da caldeira foi conduzido até que a temperatura se estabilizasse, cerca de 10 minutos.

Para analisar os resultados obtidos durante todo o processo de fermentação utilizou-se o software Origin 6.0® para a construção de gráficos representativos da cinética de fermentação, através dos perfis de curvas mostrando a evolução dos valores de concentração dos componentes de cultivo, em função do tempo.

O percentual de conversão relativo à fermentação alcoólica, foi calculado pela Equação 5.

$$\text{Conversão (\%)} = \frac{P}{S_0 \times 0,511} \times 100 \quad (5)$$

Em que:

P – concentração de etanol experimental

S₀ – concentração inicial de substrato (AR)

0,511 – Fator de conversão de açúcar em álcool

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização do mel

Na Tabela 5 encontram-se os valores médios referentes à caracterização do mel de abelha quanto à acidez total titulável, pH, açúcares redutores, sólidos solúveis, teor de água e cinzas.

Tabela 5 – Caracterização físico-química do mel para a bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo.

Parâmetros	Resultados	MAPA
Acidez Total (meq/kg)	33,1 ± 0,55	Máx. 50 meq/kg
pH	4,5 ± 0,1	NR
Açúcares redutores (%)	79 ± 0,2	Mín. 65
Sólidos solúveis	83 ± 0,0	NR
Teor de água (%)	17 ± 0,0	Máx. 20
Teor de cinza (%)	0,11 ± 0,01	Máx. 0,6

No que se refere aos resultados encontrados para a caracterização do mel de abelha utilizado na fermentação alcoólica do mosto, observou que quando comparados com a Instrução Normativa N° 11 de 20 de outubro de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000), verificou-se que os parâmetros avaliados (Tabela 5) encontram-se na faixa de valores estabelecidos, indicando que o mel de abelha foi manipulado de forma adequada e não foi adulterado.

Semelhante ao valor médio de acidez encontrada, pesquisadores como: Rodrigues *et al.* (2005) analisando amostras de méis do Brejo Paraibano encontraram um valor médio de 35,00 meq/kg; Sodré (2005), trabalhando com amostras de méis de abelhas africanizadas do Estado do Ceará, verificou um valor médio de 30,13 meq/Kg; Já Barros (2011) encontrou um valor médio de 37,76 meq/Kg, em méis produzidos no Estado do Rio de Janeiro.

Não há indica o de análise de pH na legisla o brasileira, porém esse parâmetro   considerado importante por ser uma variável auxiliar na avalia o de qualidade, podendo indicar processos fermentativos ou adultera es no produto, indicando o estado de

conservação do mel (WELKE *et al.*, 2008). O valor observado para o pH neste estudo, está dentro da faixa de valores obtidos por Anacleto *et al.* (2009) os quais verificaram valores de pH entre 3,54 a 4,64 e por Moreti *et al.* (2009) que apresentaram valores de pH na faixa de 3,40 e 5,6. De acordo com Araújo, Silva e Sousa (2006) essa variação no pH é influenciada pela diversidade e quantidade de ácidos orgânicos presentes no mel, que por sua vez variam em função das diferentes fontes de néctar, pela ação da enzima glicose-oxidase que origina o ácido glucônico, pela ação das bactérias durante a maturação do mel e ainda pela quantidade de minerais presentes.

Igualmente ao pH, a análise de sólidos solúveis totais (°Brix) também não é indicada pela legislação brasileira, no entanto, essa análise foi necessária para se obter o valor inicial em °Brix e realizar as diluições desejadas de acordo com os experimentos procedidos nesse trabalho (Tabela 4). O valor médio de sólidos solúveis totais encontrado foi de 83° Brix, valor próximo ao obtido por Silva *et al.* (2009c), que constatou um valor médio de 83,28° Brix.

Silva *et al.* (2003) em análise de 15 amostras provenientes de diferentes cidades do estado de Goiás, encontraram os valores de 78,3 e 85° Brix. Almeida Filho *et al.* (2011) analisando méis comercializados na cidade de Pombal – PB, observaram valores que variaram de 75,09% e 80,15%. A variação observada pode depender de vários fatores, como por exemplo, a época de colheita, o grau de maturidade atingido na colmeia e os fatores climáticos (SILVA *et al.*, 2009b).

O valor médio obtido para açúcares redutores estão próximos aos encontrados por Sodré (2005), que trabalhando com amostras de méis de abelhas africanizadas encontrou valores médios que variaram de 73,37 a 84,65% e 74,68 a 88,39%, respectivamente para os Estados do Ceará e do Piauí. Moreti *et al.* (2009) verificaram um teor de açúcares redutores totais variando de 72,3 a 87,2%, com valor médio de 80,5%.

O teor de umidade obtido para o mel de abelha em estudo foi de 17%. Valores semelhantes foram encontrados por Rodrigues *et al.* (2005) que variaram de 17,59 a 20,3% para méis da Paraíba. Amostras de méis do estado do Ceará pesquisados por Moreti *et al.* (2009) apresentaram o valor médio de 17,4% com um intervalo de variação de 15,0 a 20,3%. As condições climáticas no dia da colheita e extração do mel influenciam seu conteúdo de água, já que é um produto higroscópico, ou seja, absorve água (SILVA *et al.*, 2004).

Por meio da análise de cinzas, é possível determinar algumas irregularidades no mel, como, por exemplo, a falta de higiene e a não decantação e/ou filtração no final do processo de retirada do mel pelo apicultor (VILHENA; ALMEIDA-MURADIAN, 1999). O valor médio encontrado para cinzas é próximo aos encontrados por Vargas (2006), que relata uma variação de 0,01% e 1,68% e aos de Mendonça *et al.* (2008) que observaram valores entre 0,04 e 1,02%.

5.2. Planejamento experimental

Na Tabela 6 encontram-se apresentados a matriz do planejamento experimental 2^2 com 4 pontos centrais, tendo como variáveis independentes o °Brix e a concentração de levedura e como resposta teor alcoólico do fermentado.

Tabela 6 – Matriz do planejamento com os valores reais das variáveis e resultados.

Experimentos	°Brix	Conc. Levedura (g/L)	Teor alcoólico (g/L)	Teor alcoólico (%)
1	10,0	1,0	36,34	4,6
2	10,0	4,0	36,34	4,6
3	18,0	1,0	69,52	8,8
4	18,0	4,0	69,52	8,8
5	14,0	2,5	51,00	6,4
6	14,0	2,5	50,56	6,4
7	14,0	2,5	50,56	6,4
8	14,0	2,5	50,00	6,3

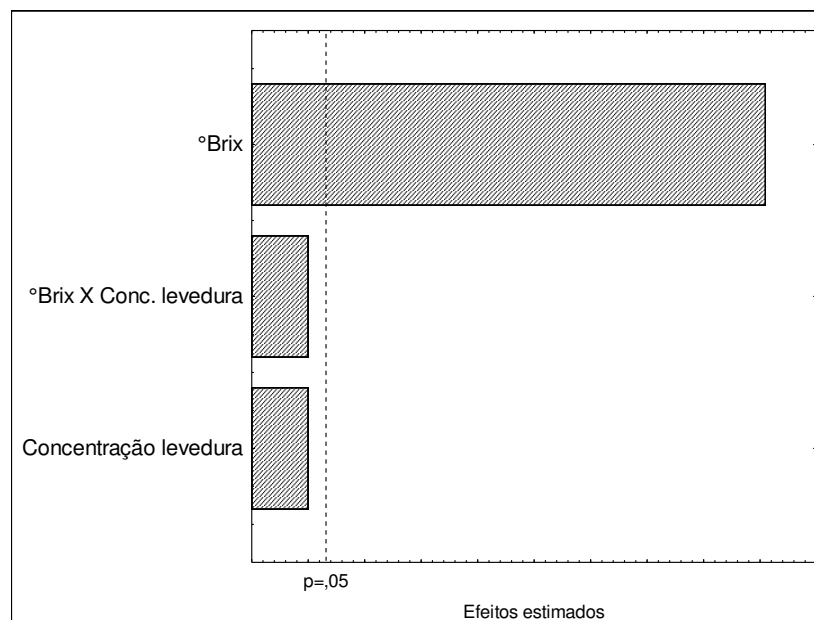
A análise dos resultados obtidos permitiu avaliar os efeitos das variáveis independentes sobre a variável dependente, por meio de análise estatística, com intervalo de confiança de 95%. Além disso, verificou-se que se o fermentado alcoólico de mel de abelha e lúpulo for direcionado para a formulação de bebida alcoólica mista, o teor alcoólico obtido para todos os experimentos encontram-se na faixa de valores exigida pela Instrução Normativa (IN) N° 55 de 31 de outubro de 2008 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento a qual determina que a bebida alcoólica mista deva conter teor alcoólico entre 0,5 e 54%.

Costa (2014) ao estudar a cinética de fermentação do mel de abelha, encontrou teores alcoólicos que variaram de 35,55 a 58,46 g/L. Já Ferraz (2015) elaborou um hidromel suplementado com maçã e obteve um valor médio de 75,86 g/L de álcool. Pereira *et al.* (2014) ao desenvolverem um fermentado alcoólico misto de polpa de açaí e cupuaçu, obtiveram um teor alcoólico de 53,72 g/L.

O teor alcoólico máximo obtido neste estudo foi de 69,52 g/L, apresentando-se acima dos resultados obtidos por Costa (2014) e Pereira *et. at* (2014). Quando comparado com o resultado de Ferraz (2015), pode-se afirmar os mesmos podem ser considerados iguais, visto que nos dois estudos foram utilizadas concentrações iniciais de sólidos solúveis totais diferentes, nos valores de 18 e 20° Brix respectivamente, para o estudo realizado e o estudo citado.

Na Figura 4 encontra-se apresentado o gráfico de Pareto, utilizado para a avaliação dos efeitos significativos das variáveis independentes na produção de álcool em um nível de 95% de confiança.

Figura 4 – Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre o teor alcoólico.



Fonte: Autora

Ao analisar o diagrama de Pareto verificou-se que a produção de etanol foi influenciada apenas pela concentração de substrato, não sofrendo o efeito da concentração de

leveduras nem o efeito da interação entre a concentração de substrato e a concentração celular. Observou-se que à medida que se utiliza uma maior concentração de sólidos solúveis totais na fermentação alcoólica, obtém-se efeito positivo na resposta, ou seja, maior teor de álcool no produto final.

Com base nos resultados da análise dos efeitos da concentração de levedura e do °Brix sobre o teor alcoólico realizou-se a análise de regressão para a obtenção de um modelo matemático que represente o comportamento dos resultados experimentais obtidos. No modelo obtido foi consideradas apenas as variáveis que apresentaram efeito estatístico significativo com no mínimo 95% de confiança.

Assim o modelo obtido pela análise de regressão e que relacionam o teor alcoólico com as variáveis independentes encontram-se descritos na Equação 6

$$\text{Teor Alcoólico (g L}^{-1}\text{)} = -6,335 + 4,147 \times \text{°Brix} \quad (6)$$

Na Tabela 7 encontra-se o quadro da análise de variância para o planejamento experimental utilizado neste estudo, bem como o coeficiente de determinação (R^2) e o erro relativo médio (ERM).

Tabela 7 – Análise de variância simplificada para o processo fermentativo.

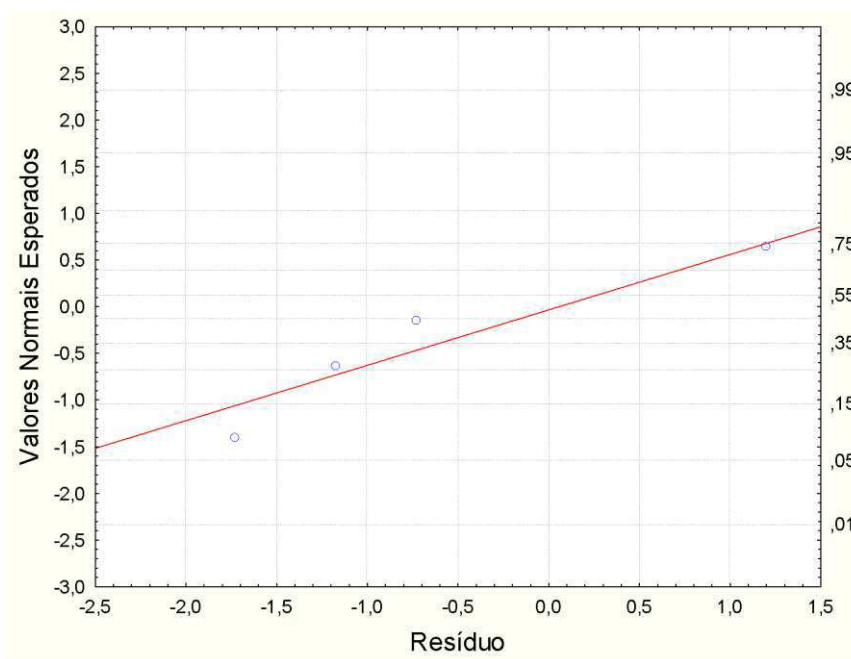
	SQ	GL	F_{cal}	F_{tab}	F_{cal}/F_{tab}	R²	ERM
Regressão	1100,912	3	122,084	6,59	18,5	98,9	2,44%
Resíduo	12,024	4					
Falta de ajuste	11,520	1					
Erro puro	0,504	3					
Total	1112,936	7					

Com base nos resultados apresentados verificou-se que o modelo obtido é estatisticamente significativo, com erro relativo médio inferior a 5% e coeficiente de determinação da regressão R^2 superior a 98,5 para o modelo de primeira ordem obtido, indicando que ele explica 98,9% da variação dos dados observados. Segundo Barros Neto, Scarminio e Bruns (1995; 2001) o coeficiente de determinação (R^2) mede a proporção da variação total da resposta que é explicada pelo modelo. Dessa forma, quanto maior o R^2 , isto é, quanto mais próximo de 1, menor será o erro e melhor o modelo.

Além disso, o valor de $F_{\text{calculado}}$ foi 18,52 vezes maior do que o F_{tabelado} , mostrando que o modelo obtido além de ser estatisticamente significativo, é também altamente preditivo dentro da faixa experimental estudada, pois, conforme Box *et al.* (1978), e Barros Neto, Scarminio e Bruns (1995), para que uma regressão seja não apenas estatisticamente significativa, mas também válida para fins preditivos, o valor de $F_{\text{calculado}}$ deve ser, no mínimo, 4 a 5 vezes o valor de F_{tabelado} e o R^2 deve ser maior ou igual a 60%.

Na Figura 5 encontra-se apresentado a probabilidade normal dos resíduos obtidos nos experimentos do processo fermentativo da bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo.

Figura 5 – Gráfico da probabilidade normal dos resíduos obtidos nos experimentos.

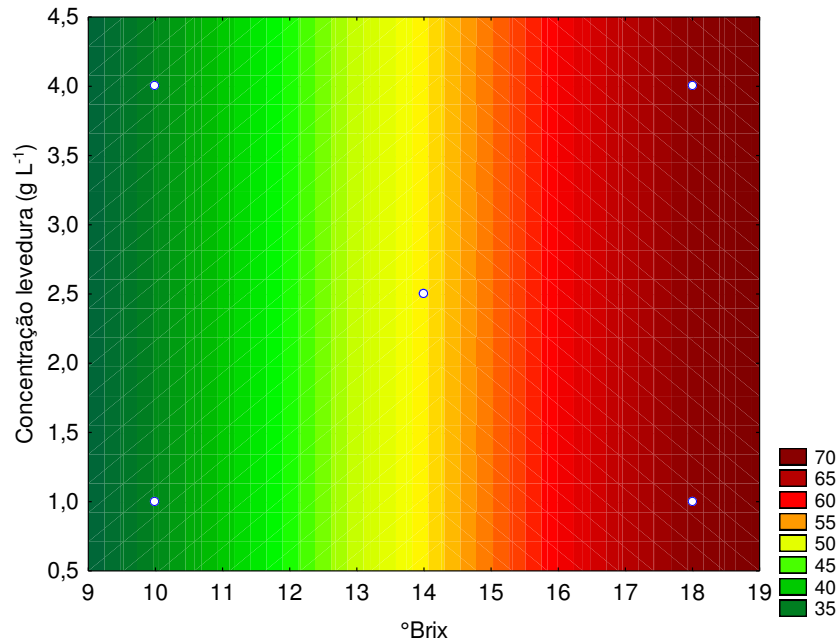


Fonte: Autora

Através do gráfico gerado, verificou-se que os resíduos seguem uma distribuição normal, visto que os pontos experimentais estão próximos da linha contínua, o que é representativo de um bom modelo. Segundo CALADO e MONTGOMERY (2003) quanto mais próximos os pontos experimentais estiverem da linha contínua, mais será válida a suposição da normalidade dos resíduos e se os erros forem distribuídos normalmente, aproximadamente 95% dos resíduos padronizados cairão no intervalo (- 2,+ 2). Ao contrário, se os resíduos encontrados estiverem muito longe dessa faixa, tem-se caracterizada assim a presença de “outliers”, pontos que são muito diferentes dos demais dados experimentais.

Com o modelo validado, foi possível gerar uma curva de contorno que serve para definir melhor a região de máximo da variável dependente teor alcoólico, apresentada na Figura 6.

Figura 6 – Curva de contorno obtida para o teor alcoólico no processo fermentativo da bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo.



Fonte: Autora

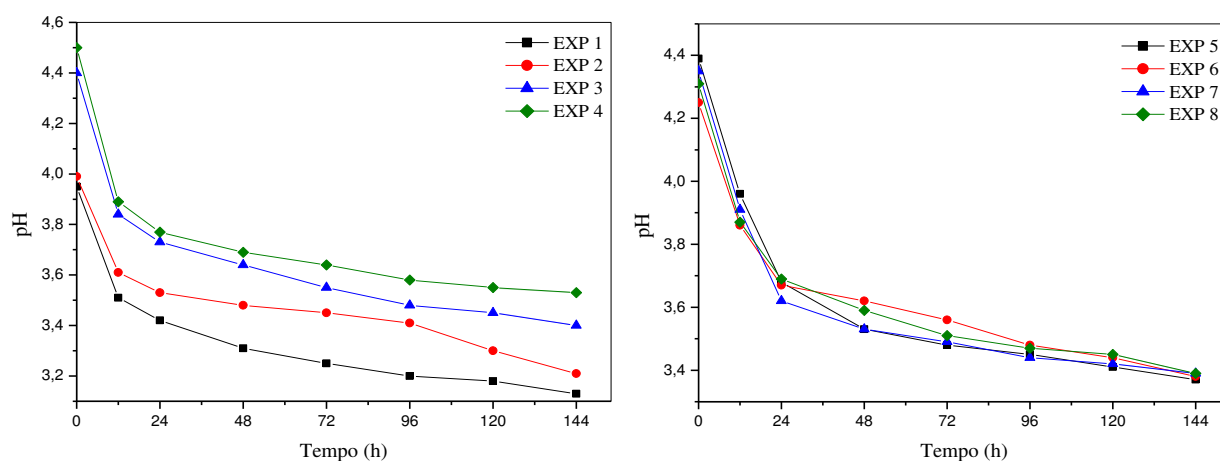
A partir da curva de contorno, verificou-se que o teor alcoólico aumenta à medida que a concentração do °Brix aumenta também, comprovando a influencia positiva desta variável, de modo que índices mínimos de etanol foram atingidos quando se processou em concentrações mais baixas (10 °Brix) e índices máximos sob concentrações extremas (18 °Brix). Como visto, a concentração de levedura em nada influenciou o teor alcoólico alcançado, podendo-se afirmar que com qualquer concentração de levedura utilizada poderá se obter os níveis de etanol obtidos neste experimento. Entretanto, menores quantidades de levedura são indicadas por tornarem o processo mais viável do ponto de vista econômico.

5.3. Processo cinético fermentativo

O estudo cinético de todas as variáveis do processo de fermentação alcoólica é necessário para a produção de bebidas alcoólicas de alta qualidade e seguras para o consumo, pois é através dos valores obtidos neste estudo que se pode confrontar com outros dados experimentais já estudados e assim, delinear parâmetros que possa ser útil a um novo produto que está sendo produzido. A legislação brasileira não dispõe de padrões de identidade e qualidade para as bebidas alcoólicas mistas. Estabelece apenas os limites mínimos e máximos de teor alcoólico que devem variar entre 0,5 a 54%, limitando a comparação de resultados com outras bebidas obtidas por mistura como é o caso do fermentado de frutas misto e outras pesquisas de mesma natureza.

Na Figura 7 encontram-se apresentados a variação do pH para os 8 experimentos executados ao longo de 144 horas, tempo este selecionado para a análise dos dados no planejamento experimental do processo fermentativo.

Figura 7 – Perfil da variação do pH do mosto no processo fermentativo da bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo.



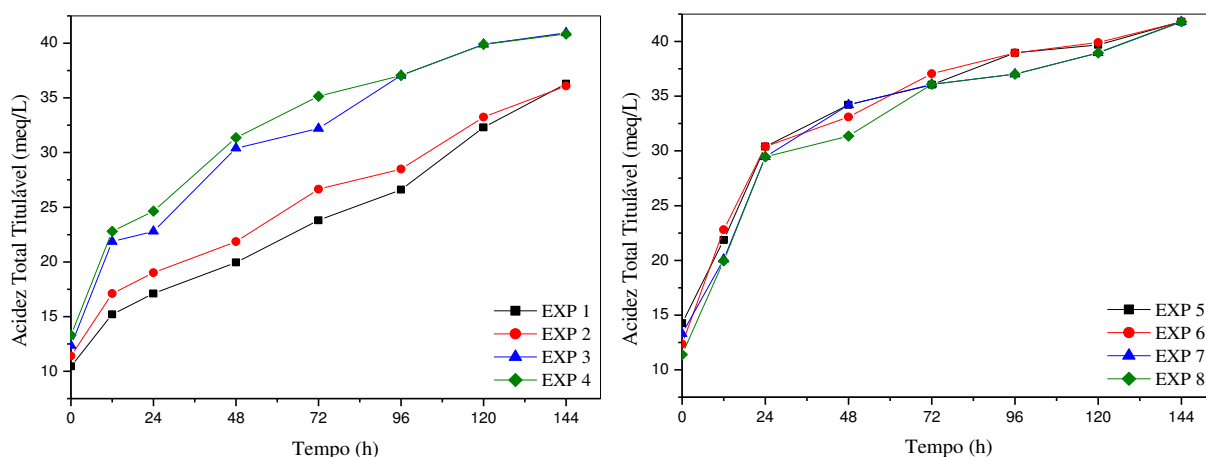
Por meio dos gráficos obtidos, verificou-se que os experimentos 1, 2, 3 e 4 apresentaram entre si um comportamento similar com uma redução brusca do pH nas primeiras 12 h de fermentação, seguida de uma suave redução ao longo do processo, no entanto com valores finais distintos. Por outro lado, para os experimentos 5, 6, 7 e 8, que também apresentaram comportamentos similares, foi observado uma queda brusca no valor de pH até o tempo de 24 h de fermentação, seguida de uma suave redução ao longo da processo.

Essa queda brusca no pH evidencia o início da fase de fermentação principal ou tumultuosa, caracterizada pela intensa liberação de gás carbônico, pela elevação da acidez do mosto e, conseqüentemente a redução do pH no meio.

No final da fermentação, o maior valor de pH encontrados foi 3,53 para o experimento 4 e o menor foi 3,13 para o experimento 1. Valores semelhantes foram encontrados por Ferraz (2015) que elaborou um hidromel suplementado com maçã; e por Lopes *et al.* (2005) ao estudar aproveitamento do fígo-da-índia (fruto da palma forrageira) na produção do fermentado da fruta.

Na Figura 8 encontram-se os resultados referentes à acidez total titulável dos experimentos do processo fermentativo da bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo.

Figura 8 – Curvas de acidez total titulável obtido no processo de fermentação alcoólica.



Nas curvas da acidez, observou-se que houve um aumento gradativo ao longo de todo o processo de fermentação para os experimentos de 1 a 4, comportamento este semelhante ao encontrado por Paula *et al.* (2011) e Brandão (2013). Já para os experimentos de 5 a 8, o aumento da acidez total titulável foi mais acentuado nas primeiras 24 h de fermentação. Segundo Borzani e Boralle (1983), o aumento da acidez e a redução do pH no processo de fermentação se deve, provavelmente, a produção de ácidos orgânicos, láctico, acético e succínico. Ademais, pode ter ocorrido adsorção do dióxido de carbono no fermentado.

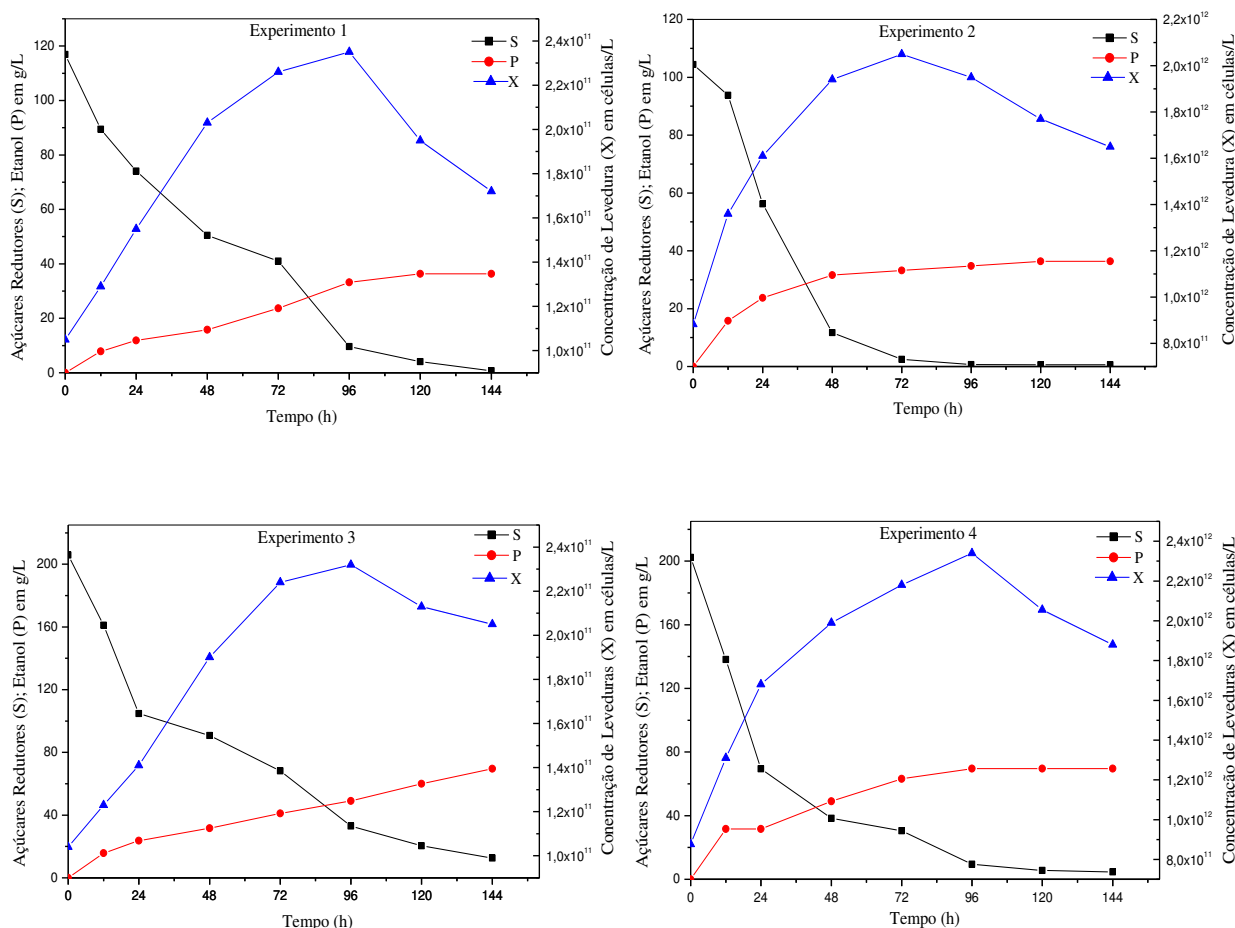
Os resultados mostraram que a acidez da bebida ficou entre 36,1 e 41,8 meq/L. Esses valores são baixos quando comparados com a legislação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para o fermentado de frutas misto, onde teor de acidez total deve está compreendido na faixa de 50 a 130 meq/L (BRASIL, 2010). A adição de ácidos

orgânicos ao mosto do mel pode ser uma alternativa para o ajuste da acidez total. Mendes-Ferreira *et al.* (2010) verificaram que a adição de 5 g/L de tartarato de potássio e 3 g/L de ácido málico ao mosto de mel resultou num aumento de 136,7 % na acidez total, passando de 20,1 para 47,57 meq/L no mosto suplementado.

Os valores dos dados experimentais referentes às variações de concentração de substrato (açúcares redutores), concentração de produto (etanol) e concentração de levedura estão representados pelas Figuras 9 e 10.

Na Figura 9 encontram-se apresentados os resultados referentes à cinética fermentativa referente aos experimentos 1, 2, 3 e 4 do planejamento experimental.

Figura 9 – Cinética fermentativa referente aos experimentos do planejamento experimental.



De acordo com a Figura 9, foi observado para os experimentos 2 e 4, que possuíam um valor de sólidos solúveis totais de 10 e 18° Brix, respectivamente, mas com concentrações de

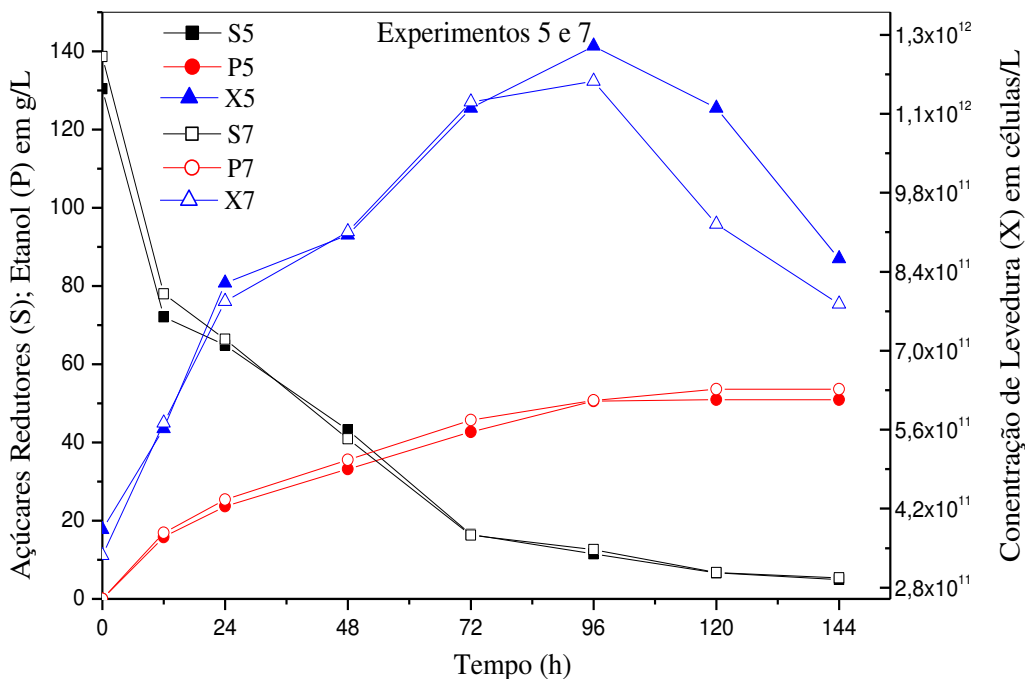
leveduras iguais, um comportamento semelhante entre si, com uma acentuada queda dos açúcares redutores até o tempo de 48 horas de fermentação alcoólica. Verificou-se neste tempo, para o experimento 2, um nível de 11,7 g/L e para o experimento 4, um nível de 38,3 g/L de açúcares redutores, indicando um consumo de substrato de cerca de 80% para ambos. Essa redução acelerada deve-se provavelmente à elevada concentração de levedura nos experimentos. Já para os experimentos 1 e 3 possuíam uma menor concentração de leveduras e mostraram um retardo no consumo de substrato, verificou-se no tempo de 48 horas, um nível de 50,5 e 90,7 g/L de açúcares redutores, respectivamente, tendo um consumo de cerca de 55%.

Quanto à produção de etanol, observou-se que todos os experimentos atingiram a faixa pré-estabelecida (3,95 e 426,6 g/L) pela legislação vigente para a produção de uma bebida alcoólica mista. Os experimentos 1 e 2, que possuíam a mesma concentração de sólidos solúveis totais, obtiveram também o mesmo teor alcoólico de 36,34 g/L e tempo de estabilização (120 horas), no entanto, com 48 horas de fermentação, o experimento 2 já atingia um valor de 33,18 g/L. Essa progressão acelerada na produção de etanol deve-se provavelmente à elevada concentração de levedura no mosto. Os experimentos 3 e 4, que apresentam uma maior concentração de sólidos solúveis totais, mas que também diferiram entre si apenas pela concentração de leveduras, obtiveram a maior produção de etanol (69,52 g/L) com 144 e 96 horas, respectivamente.

Para a concentração das leveduras, constatou-se que houve um aumento celular para todos os experimentos. Observou-se após 96 horas de fermentação alcoólica, o declínio da concentração de levedura que havia atingido os valores máximos de $2,35 \times 10^{11}$, $2,32 \times 10^{11}$ e $2,34 \times 10^{12}$ células/L, respectivamente para os experimentos 1, 3 e 4. Para o experimento 2, verifica-se também um aumento gradativo na concentração de levedura atingindo em 72 horas, o pico máximo $2,05 \times 10^{12}$ células/L seguida de um declínio decorrente da falta de substrato no meio. Todos os experimentos apresentam um aumento da concentração celular até o tempo de 12 h de fermentação, demonstrando assim, que não houve uma fase de adaptação para as leveduras.

O comportamento cinético dos experimentos do ponto central do planejamento experimental feito em quatro repetições pode ser observado através da Figura 10.

Figura 10 – Cinética fermentativa referente ao ponto central (experimentos 05 e 07).



Observa-se que os experimentos do ponto central apresentaram boa reprodutibilidade quanto aos parâmetros analisados. Nota-se que, durante todo o processo praticamente, à medida que a concentração de açúcares redutores diminui ocorre um aumento proporcional de etanol, característico do perfil ideal da fermentação alcoólica. Com relação à produção de etanol, pode-se perceber uma progressão lenta durante todo o processo de fermentação, alcançando com 120 horas decorridas (mesmo tempo dos experimentos 1 e 2), um teor alcoólico médio de 50,56 g/L. A maior concentração de leveduras encontradas nestes experimentos foi de $1,24 \times 10^9$ células/L, no tempo de 96 horas de fermentação, assim como os experimentos 1, 3 e 4.

Na Tabela 8 estão os resultados do percentual de conversão do processo fermentativo da bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo.

Tabela 8 – Resultados do percentual de conversão do processo fermentativo da bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo.

Experimentos	°Brix	Conc. Levedura (g/L)	Conversão (%)
1	10,0	1,0	60,83
2	10,0	4,0	68,11
3	18,0	1,0	66,16
4	18,0	4,0	67,23
5	14,0	2,5	76,53
6	14,0	2,5	76,43
7	14,0	2,5	76,53
8	14,0	2,5	76,32

Observando a Tabela 8, verifica-se que o percentual de conversão está dentro da faixa encontrada por Silva (2009) que estudando a otimização do processo de produção da aguardente de algaroba encontrou valores referentes ao percentual de conversão que variaram de 55,166 a 86,585%; por Ferraz (2015) que obteve valores entre 57,3 a 83,6% para hidroméis elaborados com diferentes cepas de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*. No entanto, outros autores obtiveram altos percentuais de conversão. Almeida (2007) que trabalhou com o fruto do mandacaru, encontrou um percentual de 91,82% para a conversão. Já Fontan (2011) obteve alto valor no percentual de conversão 94,0% na produção de vinho de melancia.

A baixa conversão encontrada neste estudo pode ter sido ocasionada pela levedura utilizada, visto que se utilizou uma estirpe específica da produção de vinho, sendo que a maior parte das leveduras enológicas não está adaptada às condições presentes no mosto de mel, devido aos níveis de açúcar elevados, aos valores de pH baixos e as concentrações reduzidas de azoto. Segundo Oliveira *et al.* (1996) concentrações acima de 5 mg/L dos princípios ativos presentes no lúpulo também podem causar alteração no crescimento e metabolismo das *Saccharomyces cerevisiae*, reduzindo a eficiência do processo. No entanto, pequenas quantidades de lúpulo foram utilizadas neste estudo, não sendo esse limite ultrapassado.

Dessa forma, em vista de se obter maiores percentuais de conversão, recomendam-se estudos mais contundentes acerca da levedura utilizada no processo de fermentação alcoólica do mosto de mel de abelha.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através dos experimentos realizados, concluiu-se que a produção de etanol foi influenciada apenas pela concentração de substrato, não sofrendo o efeito da concentração de leveduras nem o efeito da interação entre a concentração de substrato e a concentração celular. Observou-se que à medida que se utiliza uma maior concentração de sólidos solúveis totais na fermentação alcoólica, obtém-se efeito positivo na resposta, ou seja, maior teor de álcool no produto final.

Uma ligeira redução no teor de açúcares redutores é notada nos mostos com quantidade maior de leveduras, o que pode implicar no aspecto sensorial da bebida.

Quanto à caracterização físico-química verificou-se que os parâmetros avaliados encontram-se na faixa de valores estabelecidos, indicando que o mel de abelha foi manipulado de forma adequada e não foi adulterado. Entretanto, méis de abelha com seus parâmetros de identidade e qualidade fora da legislação podem, inicialmente, ser utilizados na fermentação alcoólica.

Em vista de se obter maiores percentuais de conversão, recomendam-se estudos mais contundentes acerca da levedura utilizada no processo de fermentação alcoólica do mosto de mel de abelha.

Por fim, foi possível comprovar a viabilidade técnica da produção de uma bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo como uma excelente alternativa de contribuição para o crescimento da agroindústria, colaborando na renda das propriedades rurais, tanto do Alto Sertão Paraibano, como também do Nordeste.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Fazer análise sensorial e, conseqüentemente a aceitação da bebida com provadores especializados;
- Trabalhar a viabilidade econômica da bebida alcoólica mista de mel de abelha e lúpulo;
- Realizar novos experimentos avaliando outras leveduras que apresentem um desempenho fermentativo mais satisfatório no processo de fermentação alcoólica do mosto de mel de abelha;
- Armazenar a bebida incluindo análises físico-química e sensorial, tendo em vista verificar possíveis mudanças em suas características.

8. REFERÊNCIAS

ALCARDE, A. R. **Fermentação.** Disponível em:<
http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_105_22122006154841.html#topoPagina>. Acesso: 14 ago. 2015.

ALMEIDA FILHO, J. P.; MACHADO, A. V.; ALVES, F. M. S; QUEIROGA, K. H.; CÂNDIDO, A. N. M. Estudo Físico-Químico e de Qualidade do Mel De Abelha Comercializado no Município de Pombal – Pb. **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil) v.6, n.3, p.83 - 90 julho/setembro de 2011.

ALMEIDA, M. M. de. **Estudo da bioconversão do mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC.) para produção de bioprodutos.** Campina Grande: UFCG/CCT, 2007. 145p. (Tese de Doutorado).

ALVES, M. A. M.; DELLA MODESTA, R. C.; SILVA, A. L. de S. e. Desenvolvimento do perfil sensorial de méis silvestres (*Apis mellifera*) de vários municípios do estado de Alagoas. Rio de Janeiro: **Embrapa Agroindústria de Alimentos**, 2005. 6 p. (Embrapa Agroindústria de Alimentos. Comunicado Técnico, 86).

ALVES, O.M.R.; CARVALHO, L.A.C.; SOUZA, A.B.; SODRÉ, S.G.; MARCHINI, C.L. Características Físico-Químicas de Amostras de Mel de *Melipona mandacaia* SMITH (Hymenoptera: Apidae). **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, versão online; Campinas. Outubro/Dezembro de 2005. p. 644 – 650. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27630.pdf>> Acesso em 10 de agosto de 2015.

ANACLETO D. A., SOUZA B. A, MARCHINI L. C, MORETI A. C. C. C. Composição de amostras de mel de abelha Jataí (*Tetragonisca angustula* latreille, 1811). **Cienc Tecnol Aliment.** 2009; 29(3):535-41.

ANKLAM, E. (1998). A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. **Food Chemistry**, 63: 549-562.

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

ARNON, S. S.; DAMUS, K.; CHIN, J. Infant botulism: epidemiology and relation to sudden infant death syndrome. **Epidemiologic Review**, v.3, p.45-66, 1981.

AROUCHA, E. M. M.; OLIVEIRA, A. J. F de; NUNES, G. H. S.; MARACAJÁ, P. B.; SANTOS, M. C. A. Qualidade do mel de abelha produzido pelos incubados da IAGRAM e comercializado no município de Mossoró/RN. **Revista Caatinga**, v. 21, n.1, p. 211-217, 2008.

AYUB, M.A.Z.; HERTZ, P. F. **Conversão de resíduos industriais da soja em etanol e outros solventes orgânicos**. UFRGS, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Laboratório de Biotecnologia, 2002. 12f. (Relatório parcial). Disponível em: <www.enq.ufsc.br/labs/probio/projeto%20Plano%20Sul/ufrgs_relatorio2002.htm>. Acesso em: 11/02/2006.

AZEREDO, M. A. A.; AZEREDO, L. da C.; DAMASCENO, J. G. Características físico-químicas dos méis do município de São Fidélis - RJ. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 1, p. 3-7, 1999.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: EDUNICAMP, 2001.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. 2 ed. Campinas: Ed. UNICAMP, 1995. 299 p.

BARROS, L. B. **Perfil sensorial e de qualidade do mel de abelha (Apis Mellifera) produzido no Estado do Rio de Janeiro**. 2001. 102f. Tese (Pós-graduação em Medicina Veterinária), Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2011.

BARTH, M.O.; MAIORINO, C.; BENATTI, A.P.T.; BASTOS, D.H.M. Determinação de Parâmetros Físico-Químicos e da Origem Botânica de Méis Indicados Monoflorais do Sudeste do Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.2, p. 229-233, 2005.

BASSO, L. C. 1991. In ALVES, D. M. G. **Fatores que afetam a formação de ácidos orgânicos bem como outros parâmetros da fermentação alcoólica** (Tese Doutorado) ESALQ Piracicaba, 1994, 199 p.

BASSO, L. C. Fisiologia e ecologia microbiana. **I Workshop Tecnológico sobre Produção de Etanol**. Projeto Programa de pesquisa em Políticas Públicas, ESALQ/ USP, 2004.

BERTONCELJ, J; DOBERŠEK, U.; JAMNIK, M.; GOLOB, T. (2007). Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. **Food Chemistry**, 105: 822-828.

BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial**. Volume II. 1ª Edição. Engenharia Química. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda. 2001. 554p.

BORZANI, W.; BARALLE, S. B. Correction of results obtained in laboratory-scale studies of batch fermentation kinetics. **Biotechnology and Bioengineering**, v.25, p.3201-3206, 1983.

BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. **Statistics for experiments: an introduction to design, data analysis and model building**, New York:Wiley e Sons Inc, 1978, 653p.

BRANDÃO, C. C. **Desenvolvimento de fermentado alcoólico de yacon. 2013. 77f**. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 36, de 14 de outubro de 1999. Aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para fermentados acéticos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 15 de outubro de 1999, Seção 1, p. 76.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. **Diário Oficial da União**, Brasília, 23 out. 2000. Seção 1, p.16-17.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 55, de 31 de outubro de 2008** Aprova os regulamentos técnicos para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para as bebidas alcoólicas por mistura. **Diário Oficial da União** Brasília, 31 out 2008. Seção 1, p. 5.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº. 35, de 16 de novembro de 2010. Padrões de identidade e qualidade para as bebidas alcoólicas por mistura. **Diário Oficial da União**, Brasília, 17 nov 2010. Seção 1, p. 2.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial União**, Brasil, n. 7-E, p. 46-53, 10 jan. 2001. Seção I.

BRUNELLI, L. T. **Produção De Cerveja Com Mel: Características Físico-Químicas, Energética E Sensorial**. 2012. 103 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Energia na Agricultura) - Universidade Estadual Paulista “Julio De Mesquita Filho”, Botucatu, 2012.

CALADO, V. e MONTGOMERY, D. C. 2003. **Planejamento de experimentos usando o Statistica**. Rio de Janeiro: E-papers Serviços editoriais, 260 p.

CAMPOS, G.; DELLA-MODESTA, R. C.; SILVA, T. J. P.; BAPTISTA, K. E.; GOMIDES, M. F.; GODOY, R. L. Classificação do mel em floral ou mel de melato. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 1-5, 2003.

CAMPOS, L. M. A. S. **Estudo dos parâmetros fermentativos na obtenção de aguardente de mel**. Dissertação 2011. 153 f. (Doutorado em Ciências do Programa em Biotecnologia Industrial na área de concentração Microbiologia Aplicada) – Universidade de São Paulo, Lorena, 2011.

CARDOSO, M. G. C. **Produção de Aguardente de Cana**. 2ed. Lavras: Editora UFLA, 445p. 2006.

CHIARADIA, A.; PASTA, M. A. C. Minimanual de Pesquisa: Química. Uberlândia: Claranto, 2004. 516 p. CRISPIM, J. E. **Tipos de Leveduras e Qualidade da Cachaça. In: Fermentação**. Urussanga: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina– EPAGRI. 2004.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Revised codex standard for honey codex stan 12- 1981**, Rev.2 [2001].24th session of the Codex Alimentarius in 2001. Disponível em: <<http://www.codexalimentarius.net/download/standards/310/CX12.pdf>>. Acesso em 06 de agosto de 2015.

CORAZZA, M. L.; RODRIGUES, D. G.; NOZAKI, J. Preparação e caracterização do vinho de laranja. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 4, Ago. 2001.

COSTA, J. S. **AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DE FERMENTAÇÃO DO MEL DE ABELHA**. 2014. 54f. Tese (Graduação em Engenharia de Alimentos), Universidade Federal de Capina Grande, Pombal, 2014.

CRANE, E. **O livro do mel**. Nobel, 1985, 2ed. São Paulo, 226p.

FERNANDES, D. ; LOCATELLI, G. O. ; SCARTAZZINI, L. S.; Avaliação de diferentes estirpes da levedura *Saccharomyces cerevisiae* na produção de hidromel, utilizando méis residuais do processo de extração. **Evidência**, Joaçaba v. 9 n. 1-2, p. 29-42, janeiro/dezembro 2009.

FERNÁNDEZ-TORRES, R., PÉREZ-BERNAL, J. L., BELLO-LÓPEZ, M. Á., CALLEJÓN-MOCHÓN, M., JIMÉNEZ-SÁNCHEZ, J. C., E GUIRAÚM-PÉREZ, A. (2005). **Mineral content and botanical origin of Spanish honeys**. *Talanta*, **65**: 686-691.

FERRAZ, F. O. **Estudo dos parâmetros fermentativos, características físico-químicas e sensoriais de hidromel**. 2015. 139f. Tese (Doutorado em Ciências do Programa de Pós-

graduação em Biotecnologia Industrial na área de concentração Microbiologia Aplicada), Universidade de São Paulo, Lorena, 2015.

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

FONTAN, R.C.I.; VERÍSSIMO, L.A.A.; SILVA, W. S.; BONOMO, R. C. F.; VELOSO, C. M. Cinética da fermentação alcoólica na elaboração de vinho de melancia. **Bol. Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**. V.29, n. 2, p. 203-210, Curitiba, jul./dez, 2011.

FRANCO, B. D. G. M.; LANGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. 2ª ed. São Paulo: Atheneus, 2002. 177p.

FREITAS, D. G. F.; KAHAN, A. S.; SILVA, L. M. R. Nível tecnológico e rentabilidade de produção de mel de abelha (*Apis mellifera*) no Ceará. **RER**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 1, p.171-188, 2004.

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

GOMES, L.P.; OLIVEIRA, D.F.B.; MIRANDA, A.N.; SOUZA, M.M.S. Determinação de *Bacillus* spp em amostras de mel produzidos por abelhas melíferas (*Apis mellifera* L.). **Anais do Congresso Brasileiro de Microbiologia**, Santos, 2005.

GONZALES, A. P., BURIN, L.; BUERA, M. A. D. P. (1999). Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color. **Food Research International**, 32: 185-191.

GRANT, H. L. Lúpulo. In: BRODERICK, H. M. (Dir.). **El cervecero en la practica: un manual para la industria cervecera**. 2. ed. Lima: Graficas SUR, 1977. cap. 8, p. 164-88.

HASHIZUME, T. Tecnologia do Vinho. Em: BORZANI, W.; AQUARONE, E.; LIMA, U. A. **Biotecnologia Industrial**. Biotecnologia na produção de alimentos. v. 4, São Paulo: Editora Edgard Blücher, 2001.

HEALE J. B., LEGG T., CONNELL S. (1989). *Humulus lupulus* L. (Hop): In vitro culture; **Attempted production of bittering components and novel disease resistance**. Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol.7, Medicinal and Aromatic Plants II, ed.by Y. P. S. Bajaj, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

HOUGH, J. S. **The biotechnology of malting and brewing**. Cambridge: Cambridge University Press, 1985. 159 p.

IAL. Normas Analíticas Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. **Produção da Pecuária Municipal 2006**. Rio de Janeiro, v. 34, p. 1-62, 2006. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2006/ppm2006.pdf>>. Acesso em: 01 de agosto de 2015.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. **Produção da Pecuária Municipal 2009**. Rio de Janeiro, v. 37, p. 1-55, 2009. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2009/ppm2009.pdf>>. Acesso em: 01 de agosto de 2015.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005 712p.

KERR, Warwick Estevan. História parcial da ciência apícola no Brasil. In: **Anais do V Congresso Brasileiro de Apicultura**. Confederação Brasileira de Apicultura, 1980.

KOMATSU, S. S.; MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. de C. C. **Análises físico-químicas de amostras de méis de flores silvestres, de eucalipto e de laranjeira, produzidos por *Apis mellifera L., 1758 (Hymenoptera, Apidae)*** no Estado de São Paulo. 2. Conteúdo de açúcares e de proteína. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 22, n.2, p. 143-146, 2002.

KUNZE, W. La cerveza terminada. In: KUNZE, W. **Tecnología para Cerveceros y Malteros**. Berlín: VLB Berlin, 2006. cap. 7, p. 826-885.

LACHMAN, J.; KOLIHOVÁ, D.; MIHOLOVÁ, D.; KOSATA, J.; TITERA, D.; KULT, K. Analysis of Minority Honey Components: possible use for the evaluation of honey quality. *Food Chemistry*, v. 101, p. 973-979, 2007.

LIMA, U. A., BASSO, L. C., AMORIM, H. V. **Produção de Etanol**. In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. (Coord.). *Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos*, v.3, capítulo 1, São Paulo, SP, Editora Edgard Blucher, 2001.

LOPES, R.V.V.; ROCHA, A. S.; SILVA, F.L.H.; GOUVEIA, J. P. G. Aplicação do planejamento fatorial para otimização do estudo da produção de fermentado do fruto da palma forrageira. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v.7, n.1, f.25-32, 2005 ISSN 1517-8595.

LOUREIRO, V.; MALFEITO-FERREIRA, M. Spoilage yeasts in the wine industry. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v.86, p. 23-50, 2003.

MARCHINI, L. C. **Caracterização de amostras de méis de *Apis mellifera L., 1758 (Hymenoptera: Apidae)* do Estado de São Paulo, baseada em aspectos físico-químicos e biológicos. 2001.** 83p. Tese (Livre Docência) – Escola superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. C. C.; OTSUK, I. P. Análise de agrupamento, com base na composição físico-química, de amostras de méis produzidos por *Apis mellifera L.* no Estado de São Paulo. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, n. 1, p. 8-15, 2005.

MATSUDA, A. H.; SABATO, S. F. Effects of irradiation on Brazilian honey's consistency and their acceptability. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 71, n. 1-2, p. 109-112, 2004.

MATUELLA, M.; TORRES, V.S. 2000. **Teste de qualidade microbiológica do mel produzido nos arredores do lixão do município de Chapecó – SC.** *Higiene alimentar*, 14, 73-77.

MELO, F. N.; MARTINS, W. F.; ALMEIDA, J. C.; SANTIAGO NETO, J. F.; ARAÚJO, A. S. **Elaboração de aguardente de mel de abelha *Apis mellifera* de acordo com a flora típica do sertão paraibano.** Simpósio nacional de saúde e meio ambiente, João Pessoa, 2014. p. 294-303.

MENDES-FERREIRA A; COSME, F.; BARBOSA, C.; FALCO, V.; INÊS, A.; MENDES-FAIA, A. (2010). Optimization of honey-must preparation and alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* for mead production. *Int J Food Microbiol* 144(1):193-8

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

MOLAN, P. C. The antibacterial activity of honey 1. The nature of the antibacterial activity. **Bee World**, v. 73, p. 5-28, 1992.

MONTGOMERY, D.C. e RUNGER, G.C. 2003. **Estatística Aplicada e probabilidade para engenheiros.** Segunda edição. LTC editora. S.A. 463p

MOREIRA, R. F. A; DE MARIA, C.A. B. Glicídios no mel. **Química Nova**, v.24, n. 4, p. 516-525, 2001.

MOREIRA, R.F.A.; DE MARIA, C.A.B.; PIETROLUONGO, M.; TRUGO, L.C. Chemical Changes in the Non-volatile Fraction of Brazilian Honeys During Storage Under Tropical Conditions. **Food Chemistry**, v.104, p. 1236-1241, 2007.

MORETI, A. C. C. C.; SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L. C.; OTSUK, I, P. Características físico-química de amostras de méis de *Apis Mellifera L.* do Estado do Ceará, BRASIL. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 33, p. 191- 199, 2009.

NOGUEIRA, A.M.P.; VENTURINI FILHO, W.G. **Aguardente de cana**. Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu. 2005. 66f.

OLAITAN, P.B.; ADELEKE, O.E.; OLA, I.O. Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. **African Health Sciences**, v.7, n.3, p. 159-165, 2007.

ODDO, L.P.; PIANA, L.; SABATINI, A.G. **Conoscere il miele - Guida all'analisi sensoriale**. Instituto Nazionale di Apicoltura. Bologna, 1996.

OLIVEIRA, A.J.; GALLO, C.R.; ALCARDE, V.E.; GODOY, A; AMORIM, H.V. **Métodos para o controle microbiológico na produção de açúcar e álcool**. Piracicaba: FERMENTEC/ FEALQ/ESALQ, 1996. 89p.

OSTERKAMP, C.I. - **Características Polínicas e Físico-químicas de Amostras de Méis de *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera, Apidea) e de *Tetragonista angustula* latreille, 1811 (Hymenoptera, trigonini) da Região do Vale do Taquari, estado do Rio Grande do Sul**. Dissertação de Mestrado em Ambiente e Desenvolvimento, Centro Universitário UNIVATES, 2009. Disponível em <http://www.univates.br/ppgad/docs/dissertacoes_t2/Isa_Carla_Osterkamp.pdf> Acesso em 05 de agosto de 2015.

PACHECO, T. F. **Fermentação Alcoólica com leveduras de características flocculantes em reator tipo torre com escoamento ascendente**. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Engenharia Química, Uberlândia, MG, Brasil, 2010.

PASIN, L. E. V.; TERESO, M. J. A.; Análise da infraestrutura existente em unidades de produção agrícola para processamento de mel na região do Vale do Paraíba – SP. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 2, p. 510-516, 2008.

PAULA, B. **Obtenção e caracterização do fermentado de umbu (*spondias tuberosa arr. cam.*) do semiárido nordestino em escala semiindustrial.** Salvador-BA, 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos)- Curso de pós Graduação da Universidade Federal da Bahia- Faculdade de Farmácia.

PELCZAR, M. J; CHANG, E. C. S; KRIEG, N. R. **Microbiologia: Conceitos e aplicações**, v.2, 2 ed.. São Paulo: Makron Books, 1997.

PEREIRA, A. P. **Caracterização de Mel com vista à Produção de Hidromel. 2008. 81 f.** Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) - Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, 2008.

PEREIRA, A. S.; COSTA, R. A. S.; LANDIM, L. B.; SILVA, N. M. C.; REIS, M. F. T. Produção de Fermentado Alcoólico Misto de Polpa de Açaí e Cupuaçu: Aspectos Cinéticos, Físico-Químicos e Sensoriais. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial.** v. 08, n. 01: p. 1216-1226, 2014.

PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; CAMARGO, R. C. R.; VILELA, S. L. O. **Produção de mel.** Embrapa Meio-Norte, versão virtual. 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/fonteshtml/mel/spmel/index.htm>>, acesso em : 11 ago. 2015.

PEREIRA, Fábria de Mello; LOPES, Maria Teresa do Rêgo. CAMARGO, Ricardo Costa Rodrigues. VILELA, Sérgio Luís de Oliveira 2003. Fábria de Mello Pereira. Bruno Souza. **Mel brasileiro conquista o mercado externo.** Disponível em: <http://www.finep.gov.br/imprensa/revista/edicao10/inovacao_em_pauta_10_apicultura.pdf>. Acesso: 06 ago. de 2015.

PEREIRA, P. C. M.; VALERIO, M. A. R. N.; FUNARI, S. R. C. Perspectivas da utilização do mel, própolis, geléia real e pólen na área médica. IN: BARRAVIEIRA, P. (Org.). **Venenos animais: uma visão integrada.** Rio de Janeiro: Pedagógica e Universitária, 1994. p. 65-80.

PEREIRA, P.J.M.F. (2007). **Propriedades antibacterianas do mel**. Tese de licenciatura em Ciências da nutrição, Faculdade de ciências da nutrição e alimentação - Universidade do Porto, Porto.

PIRES, ROSANA MARTINS CARNEIRO. **QUALIDADE DO MEL DE ABELHAS *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 PRODUZIDO NO PIAUÍ**. Teresina, 2011 Disponível em: <http://www.ufpi.br/subsiteFiles/ppgan/arquivos/files/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20Final%20MSc_%20Rosana%20Martins%20Carneiro%20Pires.pdf>http://www.ufpi.br/subsiteFiles/ppgan/arquivos/files/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20Final%20MSc_%20Rosana%20Martins%20Carneiro%20Pires.pdf>. Acesso: 06 ago. de 2015.

RIBEIRO, R. O. R.; SILVA, C.; MONTEIRO, M. L.; BAPTISTA, R. F.; GUI-MARÃES, C. F.; MARSICO, E. T.; MANO, S. B.; PARDI, H. S. Avaliação comparativa da qualidade físico-química de méis inspecionados e clandestinos, comercializados no estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Rev Bras Ciênc. Vet**, v. 16, 2009.

RODRIGUES FILHO, André. OLIVEIRA, Reinaldo Nunes de. **Tecnologia de Produção de Cana-de-Açúcar e Cachaça de Minas de Qualidade**. Belo Horizonte: EMATER – MG. 75 p. 1999.

RODRIGUES, A. E.; SILVA, E. M. S.; BEZERRA, E. M. F.; RODRIGUES, M. L. Análise físico-química dos méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em duas regiões no Estado da Paraíba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v35, n.5, p.1166-1171, set-out, 2005.

ROSSI, N.F.; MARTINELLI, L.A.; LACERDA, T.H.M.; CAMARGO, P.B.; VICTORIA, R.L. Análise da adulteração de méis por açúcares comerciais utilizando-se a composição isotópica de carbono. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.19, n.2, p.199-200, 1999.

SCHIMIDELL, W.; FACCIOTTI, M.C.R. **Biorreatores e Processos Fermentativo**. In: Schimidell, Willibaldo. (Coord.) **Biotechnology Industrial: Engenharia Bioquímica**. São Paulo: Edgar Blucher, p.179-192. (Biotechnology Industrial; v.2), 2001.

SEBRAE - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Apicultura: Uma oportunidade de negócios sustentável**. Salvador, BA, 2009. 52 p.

SEBRAE. **Informações de mercado sobre mel e outros derivados das abelhas**: sumário executivo. [S.l]: SEBRAE, 2007. 27p. (Série Mercado). Disponível em: <[http://201.2.114.147/bds/bds.nsf/E41C0BA5033EB42D8325727D004FCE50/\\$File/NT00035056.pdf](http://201.2.114.147/bds/bds.nsf/E41C0BA5033EB42D8325727D004FCE50/$File/NT00035056.pdf)>. Acesso em: 05 ago. 2015.

SEEMANN, P.; NEIRA, M. **Tecnología de la producción apícola**. Valdivia: Universidad Austral de Chile, 1988. 202 p.

SEIL, C. **O catecismo da cerveja**. São Paulo: SENAC Editora, 385p, 2003.

SILVA, C. G.; **Otimização do processo de produção da aguardente de algaroba e aproveitamento dos resíduos sólidos em produtos alimentares**. 2009. 235 f. Dissertação (Doutorado em Engenharia de Processos) - Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2009.

SILVA, C. L. da; QUEIROZ, A. J. de M.; FIGUEIREDO, R. M. F. de. **Caracterização físico-química de méis produzidos no Estado do Piauí para diferentes floradas**. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v. 8, n. 2/3, p. 260-265, 2004.

SILVA, C. L.; QUEIRÓZ, A. J. M.; FIGUEIRÊDO, R. M. F. Caracterização físico-química de méis produzidos no Estado do Piauí para diferentes floradas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 8, n. 2/3, p. 260-265, 2004.

SILVA, J. L. S. **ANÁLISE DA VIABILIDADE ECONÔMICA E SOCIAL COM PRÁTICAS DE ECONOMIA SOLIDÁRIA NA ASSOCIAÇÃO DE APICULTORES DE SUMÉ-PB**. 2013. 39 f. Tese (Especialização em Educação de Jovens e Adultos) - Diretoria De Políticas De Educação De Jovens e Adultos ,Universidade Federal De Campina Grande, Sumé. 2013.

SILVA, K. F. N. L.; QUEIRÓZ, A. J. M.; FIGUEIRÊDO, R. M. F. SILVA, C. T. M.; MELO K. S. Características físico-químicas de mel produzido em Limoeiro do Norte durante o armazenamento. **Caatinga**, Mossoró, v. 22, n.4, p.246-254, out/dez. 2009a.

SILVA, K. F. N. L.; SANTOS, D. C.; SILVA, C. T. S.; QUEIROZ, A. J. M.; LIMA, A. O. N. Comportamento reológico do mel de *Apis mellifera* do Município de Tabuleiro do Norte – CE. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 4, n. 1, p. 52-57, 2010.

SILVA, L. R., VIDEIRA, R., MONTEIRO, A. P., VALENTÃO, P. E ANDRADE, P. B. (2009b). Honey from Luso region (Portugal): Physicochemical characteristics and mineral contents. **Microchemical Journal**, 93: 73-77.

SILVA, M. B. L. **Diagnóstico do sistema de produção e qualidade do mel de *Apis Mellifera***. 2007. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

SILVA, M. B. L.; CHAVES, J. B. P.; MESSAGE, G.; GOMES, J. C.; OLIVEIRA, G. L. **Qualidade microbiológica de méis produzidos por pequenos apicultores e de méis de entrepostos registrados no Serviço de Inspeção Federal no Estado de Minas Gerais. Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.19, n. 4, p. 417-420, 2008.

SILVA, R. A. da; RODRIGUES, L. M. de F. M.; LIMA, A. de; CAMARGO, R. da C. R. Avaliação da qualidade do mel de abelha *Apis mellifera* produzido no município de Picos, Estado do Piauí, Brasil. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 144, p. 90- 94, set. 2006

SILVA, R. A.; AQUINO, I. S.; EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; SOUZA, D. L. Análise físico-química de amostras de mel de abelhas zamboque (*Frieseomelitta varia*) da região do Seridó do Rio Grande do Norte. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, n. 4, p. 70–75, out./dez. 2009c.

SILVA, R. N.; MONTEIRO, V. N.; ALCANFOR, J. D.X.; ASSIS, E. M.; ASQUIERI, E. R.; Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 3, p. 337-341, set./dez. 2003.

SILVA, S.J.N.; SCHUCH, P.Z.; VAINSTEIN, M.H.; JABLONSKI, A. Determinação do 5-hidroximetilfurfural em méis utilizando cromatografia eletrocinética capilar micelar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, Supl., p.46-50, 2008.

SMITH, B. **Brewing Beer with Honey**. [s.l.]: Beer Smith Home brewing blog, 2009. Disponível em: <<http://www.beersmith.com/blog/2009/09/05/brewing-beer-with-honey/>>. Acesso em: 12 nov. 2015.

SNOWDON, J. A.; CLIVER, D. O. Microorganisms in honey. **International Journal Food of Microbiology**, v.31, p.1-26, 1996.

SODRÉ, G.S., MARCHINI, L.C., MORETI, A.C.C.C., OTSUK, I.P., CARVALHO, C.A.L., 2007. Caracterização físico-química de amostras de méis de *Apis mellifera* L. Hymenoptera: Apidae) do Estado do Ceará. **Ciência Rural**, **37** (4), 1139-1144.

SOLOMON, H.M.; LILLY, T. Jr. *Clostridium botulinum*. **Bacteriological analytical manual** (8.ed.). (2001). Chapter 17. Disponível em: <<http://vmcfsan.fda.gov/~ebam/bamtoc.html>>. Acesso em: 11 ago. 2015.

SOUZA, C. S. **Avaliação da produção de etanol em temperaturas elevadas por uma linhagem de S. cerevisiae**. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia (USP), Instituto Butantan (IPT), São Paulo, SP, Brasil, 2009.

SOUZA, D. C. A profissionalização da apicultura no Brasil. **Revista Sebrae Agronegócios**, Brasília, n. 3, p. 50-51, maio 2006.

SOUZA, D. L.; SILVA, R. A.; QUEIROGA, R. C. R. E.; OLIVEIRA, M. E.; RODRIGUES, A. E. Análise físico-química de méis de abelha urucu (*Melipona scutellaris*), produzidos na microrregião do Brejo Paraibano. **Higiene Alimentar**, v.22, n. 165, p. 103-106, 2008.

SROKA, P., TUSZYŃSKI, T., 2007. **Changes in organic acid contents during mead wort fermentation.** *Food Chemistry*, 104, 1250-1257.

STATSOFT, Inc. Statistica (Data Analysis Software System), Version 5, 1997. Statsoft. (1997). Statistica for Windows 5.0., 1995. **Computer program manual.** Statsoft Inc., Tulsa.

STECKELBERG, C. **Caracterização de leveduras de processos de fermentação alcoólica utilizando atributos de composição celular e características cinéticas.** Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas, SP, Brasil, 2001.

TSOCHPE, E. C., **Microcervejarias e Cervejarias: A História, a Arte e a Tecnologia.** São Paulo. Ed. Aden, 223p., 2001.

VARGAS, T. **Avaliação da qualidade do mel produzido na região dos Campos Gerais do Paraná.** 2006. 123f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa do Paraná, Ponta Grossa, 2006.

VASCONCELOS, N. M.; PINTO, G.A.S.; ARAGAO, F. A. S. de **Determinação de açúcares redutores pelo ácido 3,5-dinitrosalicílico: histórico do desenvolvimento do método e estabelecimento de um protocolo para o laboratório de bioprocessos.** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013. (Embrapa Agroindústria Tropical. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 87).

VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de cerveja.** Jaboticabal: Funep, 2000. 83 p.

VENTURINI, K. S.; SARCINELLI M. F.; SILVA, L. C. **Características do mel.** Boletim Técnico – PIE-UFES: 01107 2007. Disponível em: <http://www.agais.com/b01107_caracteristicas_mel.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2015.

VILELA, S. L. de O. **A importância das novas atividades agrícolas ante a globalização: a apicultura no Estado do Piauí.** Teresina: Embrapa Meio-Norte, 228 p., 2000.

VILHENA, F.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Análises físico-químicas de méis de São Paulo. **Mensagem Doce**, v. 53, p. 17-19, 1999.

WELKE, J.E.; REGINATTO, S.; FERREIRA, D.; VICENZI, R.; SOARES, J.M. Caracterização Físico-Química de Méis de *Apis mellifera L.* da Região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v.38, n.6, p. 1737-1741, 2008.

WHITE, C. **Yeats: the practical guide to beer fermentation**. New York: Brewes Publications. 2010. 226p.

WHITE, J.W. E DONER, L.W. (1980). **Honey composition and properties, Beeking in the United States**, Agriculture handbook, n. ° 335, p. 82-91.