



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DO SEMIÁRIDO
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E
BIOPROCESSOS
CURSO DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E BIOPROCESSOS**

ANALU FREITAS DE SOUZA BRITO

**ANÁLISE CINÉTICA E ESTUDO DOS PARÂMETROS FERMENTATIVOS PARA A
PRODUÇÃO DE HIDROMEL**

SUMÉ-PB

2015

ANALU FREITAS DE SOUZA BRITO

**ANÁLISE CINÉTICA E ESTUDO DOS PARÂMETROS FERMENTATIVOS PARA A
PRODUÇÃO DE HIDROMEL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

Orientador: Prof. Dr. Jean César Farias de Queiroz

SUMÉ-PB

2015

B862a Brito, Analu Freitas de Souza.

Análise cinética e estudos dos parâmetros fermentativos para a produção de hidromel / Analu Freitas de Souza Brito. - Sumé - PB: [s.n], 2015.

67 f.

Orientador: Prof. Dr. Jean César de Farias Queiroz.

Monografia - Universidade Federal de Campina Grande; Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido; Curso de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

1. Bioprocesso. 2. Fermentação. 3. Apicultura. 4. Mel. I. Título.

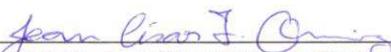
CDU: 638.16 (043.3)

ANALU FREITAS DE SOUZA BRITO

**ANÁLISE CINÉTICA E ESTUDO DOS PARÂMETROS FERMENTATIVOS PARA A
PRODUÇÃO DE HIDROMEL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

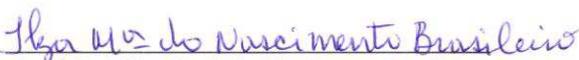
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Jean César Farias de Queiroz
UATEC/CDSA/UFCG
Orientador



Prof.^a Dr.^a Glauciane Danusa Coelho
UATEC/CDSA/UFCG
Examinadora 1



Prof.^a Dr.^a Ilza Maria do Nascimento Brasileiro
UATEC/CDSA/UFCG
Examinadora 2

Aprovado em 27 de novembro de 2015.

SUMÉ - PB

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, por me proporcionar saúde e fé para caminhar rumo aos meus objetivos, a minha mãe Cida Freitas, mulher guerreira e de fibra, a minha irmã Mayara Moura, aos meus avós Rita e Epitácio (*in memoriam*) e a Jémerson Carlos, por todo amor que sempre me dedicaram. “Com palavras não sei dizer, como é grande o meu amor por vocês.”

AGRADECIMENTOS

Ainda que este trabalho seja pessoal, não é o fruto do esforço de uma só pessoa. De maneira humilde e com o maior prazer, gostaria de agradecer a várias pessoas, que deram sua valiosa contribuição para que este trabalho se concretizasse.

Agradeço a Deus por estar presente na minha vida e me fazer trilhar perseverante por caminhos desconhecidos, por ter me concedido disposição para os estudos, por me dar uma nova oportunidade todos os dias.

Ao meu orientador, professor Jean Queiroz, pela paciência, por todos os ensinamentos, pelo apoio, confiança, amizade e oportunidade.

Aos professores componentes da banca, pelas correções e sugestões.

A professora Fabiana Pimentel por todo apoio e amizade.

Aos professores da UFCG que contribuíram para minha formação.

Aos técnicos de laboratório Adriano e Amanda pelo apoio e pela ajuda.

A minha mãe Cida Freitas, meu amor maior, minha base, mulher guerreira que sempre me apoiou, que fez o papel do pai que nunca tive obrigada por acreditar e confiar em mim. A minha irmã Mayara Moura, por todo carinho, força e companheirismo. Aos meus avós, Epitácio Bento (*in memoriam*) e Rita Maria, por todo amor que me deram, por toda dedicação, por me educarem e dar o maior exemplo de dignidade. A vocês, todo o meu amor.

Aos meus tios (Ermírio, Ernando e Erminando) e tias (Marta, Rita, Inácia, Lúcia e Ana Maria) pelo apoio incondicional e incentivo.

Aos meus primos/irmãos Tales, Cíntia, Gabriel, Larissa, Raíssa, Aíla, Tássia, Guilherme, Flávio, Jorge e Maria Rita, que sempre estiveram ao meu lado, me apoiando e incentivando.

A Ângela Freitas (*in memoriam*) minha eterna anjinha, que sempre esteve e estará comigo.

A Jémerson Carlos por todo amor, pelo apoio, por entender minhas constantes ausências, e pelo carinho.

A Renato Guimarães, meu amigo de infância, por ter contribuído de forma ímpar para a conclusão deste trabalho, por todo apoio e ajuda.

Aos companheiros de vida, aventuras e de carona, Raíssa Mayane, Rosane, Rayna, Joacil e Romário.

A Rosilândia, Dênis, Fagner, Anderson, Débora, Luana Camila e Ozires, equipe de Laboratório que sempre me ajudou nas horas de sufoco.

A minhas catilangas Tamilyes, Luanna Vilar, Jully, Carlinha, Érika e Janúbia por terem feito esses cinco anos mais alegres, por todas as risadas e momentos únicos compartilhados, que jamais vou esquecer. Vocês são nota mil.

A família que a Universidade me presenteou, Gérsia e Manu, minhas irmãs de coração, que amo de verdade, que sempre me dão apoio, carinho, conselhos e puxões de orelha quando necessário.

A Lorena e Lorrany (chatonilda), duas amigas lindas que vou levar sempre comigo.

A Rodolfo Inácio, Caio Azevedo, Darlyson e Vanessa Oliveira por todo apoio.

A Lúcia, Bella, Fernanda, Gustavo, Hemerson, Édipo, Alan, Rafael, Yuri, Carol, Tamara e a toda turma 2010.1.

A Fernanda Santos por todo carinho, amizade e apoio.

MUITO OBRIGADA!

*“Aprendi com a primavera a deixar-me
cortar e a voltar sempre inteira.”*
(Cecília Meireles)

RESUMO

Buscando agregar valor à apicultura regional, o hidromel surge como uma alternativa para os apicultores. Dessa forma, o estudo avaliou dois diferentes tipos da levedura *Saccharomyces cerevisiae* para a produção de hidromel, sendo uma comercial (Safbrew T-58) e a outra industrial (JP1). Foi utilizado mel de abelhas (*Apis mellifera L.*) do tipo silvestre para a obtenção de hidromel, com a perspectiva de diversificação dos produtos derivados da apicultura. O mosto foi preparado com mel diluído em água, resultando numa solução com 30 °Brix, inoculada com os dois tipos de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*). A fermentação alcoólica ocorreu à temperatura de 28-30°C e pH 4,5. Um estudo cinético foi realizado para comparar a concentração e massa celular e o °Brix de soluções de mel diluído. Os resultados permitiram verificar as fases de crescimento microbiano e de produção de álcool da fermentação, e o consumo de glicose. Os resultados mostraram que ambas as leveduras são indicadas para a elaboração do hidromel, apresentando os maiores valores de rendimento, eficiência e produtividade na conversão dos açúcares em álcool. Os rendimentos da fermentação alcoólica variaram entre 0,75 e 12,3%, com eficiências de 14,68 a 92,37% e produtividades entre 0,07 e 0,17g/L.h⁻¹. O hidromel assim produzido foi submetido à análise sensorial por meio de testes de preferência por um corpo de provadores selecionados aleatoriamente. Foram avaliados os atributos aparência geral, cor, aroma, sabor e intenção de compra. Os resultados obtidos utilizando o teste aceitabilidade com escala hedônica demonstraram que a amostra Hidromel B apresentou as maiores médias entre as amostras estudadas, para todos os atributos. A preferência dos provadores recaiu nas bebidas produzidas com a levedura JP1 (Hidromel B e Hidromel C). Considerando os resultados obtidos, pode-se concluir que as duas formulações agradaram ao público apreciador de bebidas alcoólicas, sendo viáveis suas produções, porém, ainda necessita de maiores estudos do processo fermentativo para obtenção do produto dentro de um padrão aceitável pelo mercado.

Palavras-Chave: Mel; Fermentação; Bioprocesso; Análise Sensorial.

ABSTRACT

Intending to add value to the regional beekeeping, mead is an alternative for beekeepers. Therefore, the study evaluated two different types of yeast *Saccharomyces cerevisiae* for the mead production, one commercial (Safbrew T-58) and the other industrial (JP1). Wild type bee honey (*Apis mellifera* L.) was used to obtain mead, with propose of beekeeping product diversification. The wort was prepared with honey diluted in water, resulting in a 30° Brix solution, inoculated with two types of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). The alcoholic fermentation took place at 28-30°C temperature and pH 4.5. A kinetic study was performed to compare the concentration and cell mass, and the Brix of diluted honey solutions. The results displayed the stages of microbial growth, and fermentation ethanol production, and glucose consumption. The results showed that both yeasts are appropriate for the preparation of mead, with the highest income values, efficiency and productivity in the conversion of sugars into alcohol. Proceeds from the alcoholic fermentation ranged between 0.75 and 12.3%, with efficiencies from 14.68 to 92.37% and yields between 0.07 and 0.17g/L.h-1. Mead thus produced was subjected to sensory analysis through preference tests by a taster group randomly selected. They evaluated the attributes of overall appearance, color, smell, taste and buying intent. The results obtained using the test acceptability with hedonic scale showed that the sample Mead B had the highest average among the studied samples, for all attributes. The preference of tasters were in beverages produced with the JP1 yeast (Mead B and Mead C). Considering these results, we can conclude that the two formulations satisfy the public tender of alcohol, being viable its productions, however, requires further studies of the fermentation process for obtaining the product within a standard acceptable to the market.

Key words: Honey; Fermentation; Bioprocess; Sensory Analysis.

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

Figura 1: Nova delimitação do Semiárido brasileiro.....	16
Figura 2: Frasco para inoculação.....	33
Figura 3: Biorreator de bancada.....	35
Figura 4: Alambique artesanal.....	37
Figura 5: Média e desvio padrão das médias da análise sensorial do atributo aparência geral para as três formulações de bebida.....	50
Figura 6: Média e desvio padrão das médias da análise sensorial do atributo cor para as três formulações de bebida.....	51
Figura 7: Média e desvio padrão das médias da análise sensorial do atributo aroma para as três formulações de bebida.....	52
Figura 8: Média e desvio padrão das médias da análise sensorial do atributo sabor para as três formulações de bebida.....	53
Figura 9: Média e desvio padrão das médias da análise sensorial do atributo intenção de compra para as três formulações de bebida.....	54
Gráfico 1: Curva de crescimento da Safbrew T-58 e da variação da concentração de solutos (°Brix) em função do tempo.....	40
Gráfico 2: Curva de crescimento da Safbrew T-58 e da variação da concentração de solutos em função do tempo.....	41
Gráfico 3: Curva de crescimento da Safbrew T-58 e da variação da concentração de solutos em função do tempo.....	42
Gráfico 4: Curva de crescimento da JP1 e da variação da concentração de solutos em função do tempo.....	43
Gráfico 5: Curva de crescimento da JP1 e da variação da concentração de solutos em função do tempo.....	44
Gráfico 6: Curva de crescimento da JP1 e da variação da concentração de solutos em função do tempo.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Caracterização do mosto no processo de produção de hidromel.....	46
Tabela 2: Parâmetros fermentativos referentes as leveduras selecionadas.....	47
Tabela 3: Caracterização do mosto no processo de produção de hidromel.....	48
Tabela 4: Parâmetros fermentativos referentes as leveduras selecionadas.....	49

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

SUDENE- Superintendência do Desenvolvimento do Nordeste

ISO- International Organization for Standardization

UFCG- Universidade Federal de Campina Grande

CAAE - Certificado de Apresentação para Apreciação Ética

$Y_{p/s}$ - rendimento

P_f - concentração final de etanol

P_i - concentração inicial de etanol

S_i - concentração inicial de açúcares

S_f - concentração final de açúcares

Q_p - produtividade

t - tempo de fermentação

μm - micrômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1- SEMIÁRIDO BRASILEIRO.....	16
2.2- O BIOMA CAATINGA.....	17
2.3- APICULTURA.....	18
2.4- MEL.....	20
2.5- HIDROMEL.....	22
2.6- LEVEDURAS.....	23
2.6.1- <i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	23
2.7- PROCESSOS FERMENTATIVOS.....	24
2.7.1 - Reciclo de Células	25
2.7.2 Fatores que Influenciam os Processos Fermentativos	26
2.7.3 Fermentação em Descontínuo ou Batelada (Batch)	28
2.7.4 Fermentação em Descontínuo Alimentado ou Batelada Alimentada (Fed-Batch) ..	29
3 OBJETIVOS.....	31
3.1 OBJETIVO GERAL.....	31
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
4 METODOLOGIA.....	32
4.1- MATÉRIA-PRIMA.....	32
4.2- MICRORGANISMOS.....	32
4.2.1- Propagação Da Levedura JP1	32
4.3- ETAPAS <i>UPSTREAM</i>	33
4.3.1- Preparo do Mosto	33
4.3.2- Preparo do Inoculo (Levedura Safbrew T-58)	33
4.3.3- Preparo do Inoculo (Levedura JP1)	34
4.3.4- Processo de Fermentação de Forma Descontínua	34
4.3.5- Processo de Fermentação de Forma Descontínua Alimentada	35
4.3.6- Reciclo De Células	35
4.3.7- Determinação da Concentração Celular e do °BRIX	36
4.4- ETAPAS <i>DOWNSTREAM</i>	36
4.4.1- Clarificação	36
4.4.2- Determinação Do Etanol	37
4.5- PARÂMETROS FERMENTATIVOS.....	37
4.5.1- Rendimento de Substrato em Produto	37
4.5.2- Eficiência (η)	38
4.5.3- Produtividade	38
4.6- ANÁLISE SENSORIAL.....	38
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
5.1- CINÉTICA DE FERMENTAÇÃO PARA PRODUÇÃO DE HIDROMEL REALIZADA EM ENSAIOS DE FORMA DESCONTÍNUA E DESCONTÍNUA ALIMENTADA, UTILIZANDO AS LEVEDURAS SAFBREW T-58 E JP1.....	40

5.1.1- Cinética De Fermentação De Forma Descontínua E Descontínua Alimentada Levedura Safbrew T-58.....	40
5.1.2- Cinética De Fermentação De Forma Descontínua E Descontínua Alimentada Levedura JP1	43
5.2- PARÂMETROS FERMENTATIVOS.....	46
5.3- ANÁLISE SENSORIAL.....	50
5.3.1- Aparência geral	50
5.3.2- Cor	51
5.3.3- Aroma.....	52
5.3.4- Sabor.....	53
5.3.5- Intenção de Compra.....	54
6 CONCLUSÕES	55
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	56
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
9 ANEXOS.....	64
Anexo I- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	64
Anexo II- Ficha de avaliação.....	65

1 INTRODUÇÃO

Há muito tempo, o homem faz consumo de produtos obtidos de processos microbianos como queijo, molho de soja, bebidas alcoólicas fermentadas, pão, iogurte, dentre outros (TUSE, 1994). A degustação do álcool nas diversas civilizações, deu início com a revolução neolítica, estando o hidromel e a cerveja entre as bebidas mais consumidas nesse período com fatos datados de 2200 a.C. (LINO, 2006).

A apicultura brasileira distingue-se por pequenos produtores que empreendem até 150 colmeias de abelhas, empregando mão de obra familiar, conservando atividades análogas, como principal, ou como complementar, à apicultura (VERAN, 2005; BIALOSKORSKI NETO, 1998). O bom emprego do mel na produção de produtos alimentícios é uma opção para complementar a renda doméstica dos apicultores, adicionando importância aos produtos com métodos relativamente simples (MATTIETTO et al., 2006). Produtos levedados à base de mel são vastamente aceitados e consumidos na Europa. Na América Latina, destacam-se a Argentina e a Bolívia. No Brasil, esses produtos ainda não são conhecidos, talvez pela falta de informação e/ou estudos tecnológicos para aquisição dos mesmos (MATTIETTO et al., 2006).

Nos estados nordestinos, grande parte do mel é originário de floradas naturais do semiárido, a exemplo do marmeleiro, do angico, cipó-uva e de outras floradas, como a florada do caju, nas temporadas de entressafra (USAID, 2006). No Nordeste, os principais produtores de mel são os Estados do Piauí, Ceará e Bahia, que acoplados importaram 10,9 mil toneladas de mel em 2009, representando quase 73,1% de toda a fabricação nordestina de mel (IBGE, 2009). Este trabalho visa apresentar o desenvolvimento de uma bebida fermentada de mel, visto que o Nordeste é uma região que proporciona condições adequadas para o incremento da produção de mel, por ser dono de um pasto apícola farto, condições climáticas adaptadas e por dispor de mão de obra no meio rural e mercado vasto, entretanto pouco empreendido (BRASIL, 2007).

O hidromel é uma bebida alcoólica apreciada em quase todo mundo com diversos relatos etnológicos noticiados, contudo, ainda são incomuns as pesquisas científicas sobre o mesmo (TERAMOTO et al., 2005).

A utilização de um produto típico da apicultura de um determinado local para a produção de um artigo que seja mundialmente reconhecido poderá ser um diferencial que não se encontra em registros frequentes na literatura. É de extrema importância uma pesquisa com este foco na região do Semiárido no Cariri paraibano, devido ao grande potencial econômico,

nutricional, social e cultural do produto apresentado, tendo em vista o desenvolvimento que a pesquisa poderá fornecer para a região, que irá possibilitar a geração de emprego e renda, além da importância nacional de um produto regional.

O presente trabalho teve como intuito comparar os perfis sensoriais de hidromel produzidos sob determinadas condições, com o uso de duas cepas de *Saccharomyces cerevisiae* diferentes.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1- SEMIÁRIDO BRASILEIRO

O semiárido brasileiro envolve uma área de 1.150.662 km², que corresponde a 74,30% da Região Nordeste e a 13,52% da superfície do Brasil (PAES et al., 2003), é o maior do mundo em expansão e de densidade demográfica, compreendendo os estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia e mais a região setentrional de Minas Gerais (SILVA, 2003). Para o Ministério da Integração Nacional a demarcação do semiárido modificou de modo recente em função de determinados critérios adotados por aquele órgão do governo no trabalho intitulado: Nova Delimitação do Semiárido de 2005; com isto, o território desta região passou dos 892.309,4 km², corrigindo posteriormente os números supracitados, para 969.589,4 km², como mostra a Figura 1, e sua população compreendia cerca de 21 milhões de habitantes, adotando como base o censo do IBGE do ano 2000. Segundo o IBGE (2011), em 2010 a região Nordeste computava uma população de 53 milhões de habitantes.

Figura 1: Nova delimitação do Semiárido brasileiro



Fonte: Ministério da Integração Nacional (2005).

Com base em trabalho realizado por George H. Hargreaves para a Sudene no início da década de 1970, Aziz Ab'Sáber (2003) lança, a existência de quatro faixas regionais de clima seco no interior do semiárido: as faixas semiáridas moderadas (caatingas agrestadas), as faixas semiáridas rústicas ou semiáridas típicas (os “altos sertões”); as faixas semiáridas aceradas ou subdesérticas (distinguidas popularmente como “sertão bravo”); e as subáreas de mudança ou faixas subúmidas (os agrestes). O déficit hídrico que diferencia essa região não denota falta de chuva ou água, mas a evaporação, uma vez que esta é três vezes maior do que a precipitação, por isso é fundamental saber arquivar essa água, de maneira que ela não evapore, para ainda ser benéfica nas estações de seca (MALVEZZI, 2007).

A biodiversidade do semiárido importa uma grande potencialidade de matéria prima para o incremento de produtos diversos, além de ter valor social, econômico, cultural, recreativo e estético (BORÉM, 2005). Os microrganismos originários de ambientes, como o do semiárido, podem proporcionar benefícios enormes no setor científico devido às condições extremas do seu habitat, como salinidade, o espectro de pH, temperatura e de nutrientes. A heterogeneidade microbiana proporciona características cultiváveis à biotecnologia devido às condições extremas do ambiente, que fornecem aos microrganismos atributos metabólicos novos e/ou recombinação de genes de interesse, significando o produto do seu metabolismo de ampla importância para aplicação de processos biotecnológicos (CARDOSO et al., 2003).

Os organismos estão extremamente adaptados às condições adversas do ambiente como solos com alta salinidade, pobres em nutrientes e muito ácidos, além das altas temperaturas (CARDOSO et al., 2003), que chegam a atingir até 60°C na rocha nua. O semiárido é uma das regiões que proporciona uma biodiversidade de grande importância devido às peculiaridades da sua biota (INSEAR, 2015). Neste argumento, o estudo dos microrganismos ministrará conhecimentos valiosos acerca de moléculas de interesse industrial e um extraordinário recurso para o incremento de novos aproveitamentos biotecnológicos (CARDOSO et al., 2003).

2.2- O BIOMA CAATINGA

De acordo com Santana (2015), a Caatinga é o único bioma tipicamente brasileiro, compreendendo uma área de aproximadamente 800.000 km², abarcando todos os estados nordestinos, além do norte do estado de Minas Gerais, o que concebe cerca de 11% da superfície do país, e abriga em torno de 29% da população nordestina, assim como aproximadamente 50% da população rural brasileira. Giuliatti e colaboradores (2004),

referem-se ao nome de Caatinga assegurando que é o tipo de vegetação que cobre a maior parte da área com clima semiárido da região Nordeste do Brasil. A caatinga representa o principal tipo vegetacional característico da região semiárida; enquanto as manchas de mata úmida, cerrado, mata estacional e cerradão, que ocorrem alastradas pelo semiárido, concebem vegetações residuais de estações climáticas mais úmidas (FERNANDES, 1996). Sua biota, apesar de ser pouco apreciada, é mais variada que qualquer outro bioma do mundo, o qual encontrar-se desvendado às mesmas condições de clima e de solo (SILVA, 2004). Abastada em biodiversidade e endemismos e bastante heterogênea, deve ser ponderada como uma riqueza biológica de estima incalculável (CAATINGA, 2015).

O nome “caatinga” é de origem Tupi-Guarani e quer dizer floresta branca, que seguramente distingue bem o aspecto da vegetação na estação seca, porque as folhas caem (PRADO, 2003). A caatinga advém em sua maior parte na área do semiárido nordestino, cujos solos modificam de um modo geral, de extremamente rasos a brandamente profundos. Usualmente, nos altos e nas encostas das colinas não resta mais solo e a rocha indecomposta está totalmente descoberta. Entre os biomas brasileiros, a Caatinga é o menos experimentado botanicamente. As famílias com grande número de espécies endêmicas são Leguminosae e Cactaceae, que estão em perigo de extinção (MMA, 2003). A flora deste bioma faz parte do componente da flora brasileira e envolve no feitiço fitogeográfico seis estados (Paraíba, Sergipe, Pernambuco, Alagoas, Rio Grande do Norte e Ceará), oeste e sudoeste do Piauí e Nordeste da Bahia (ANDRADE-LIMA, 1954).

No conjunto, os solos do semiárido são de precária fertilidade, se analisados os predicados geológicos de intemperismo. (LIMA, 1982). Os solos da região ecológica da caatinga compõem-se em um apoio extensivo de uma circunstância biogeográfica que sobrevive do campo da aridez em sentido limitado, ao mesmo tempo em que conservar-se afastada do campo das paisagens tropicais úmidas, propriamente proferidas (AB SABER, 1974).

2.3- APICULTURA

De acordo com Gonzaga (1998), as abelhas surgiram no Continente Asiático há aproximadamente 45 milhões de anos, e iniciaram a ser cultivadas, prudentemente, pelo homem a partir de 2.400 a.C. Os egípcios deram início as técnicas iniciais de manejo, incidindo a colocar as abelhas em potes de barro, tendendo ao transporte das colmeias. A palavra colmeia tem genealogia grega, visto que os enxames de abelhas eram postos em

embalagens com forma de sino, improvisados de palha trançada chamada de *colmo*. Por meio das técnicas de manejo, o homem foi instruindo-se a resguardar seus enxames, instalá-los em colmeias racionais e manejá-los de forma que existisse uma máxima produção de mel sem acarretar prejuízo para as abelhas. Nascia, assim, a apicultura. Essa atividade monopolizou o tempo, ganhou o mundo e se tornou uma admirável fonte de renda. Abre o espaço para a busca de aprendizados alternativos de produção agrícola que reverenciem o meio ambiente e o homem, ao tempo em que procura se distinguir da exploração tradicional, pela consignação da não utilização de insumos e defensivos que cheguem a danificar a qualidade do ambiente e do alimento brotado (SOUZA, 2002).

A polinização ativa efetivada pelas abelhas do gênero *Apis*, também tem sido um dos fatores para a conservação da biodiversidade, impactando de maneira positiva a ratificação do ecossistema local, permitindo também ganhos de fertilidade em várias culturas. Somente no início dos anos 80 a apicultura brasileira principiou a difundir-se como atividade agropecuária e a usurpar admiradores em todo o país, alargando o número de apicultores e a produção brasileira de mel. Todavia, apenas nos anos 90 a apicultura alcançou os pequenos produtores que começaram a ver a vocação da atividade para a exploração da mão de obra familiar, o que harmonizou o crescimento da produção de mel e o Brasil ocupou a quinta posição mundial e a partir de então, passou a exportar mel no ano de 2002, sendo os grandes produtores os Estados de Minas Gerais, Santa Catarina, Piauí, Paraná, Bahia, Ceará, Rio Grande do Sul, São Paulo e Pernambuco. O Nordeste é o terceiro maior produtor do País, e o estado de Sergipe ocupa a 9ª posição do ranking dos estados do Nordeste, sendo a mesorregião geográfica do Sertão Sergipano (Semiárido) correspondente a 50% da produção sergipana, a mesorregião Leste Sergipano (Zona-da-mata) a 35% e a mesorregião Agreste Sergipano a 15% da fabricação de mel no estado (CARVALHO, 2005).

A importância da biodiversidade é indiscutível no mundo todo. Inclusas neste âmbito, as abelhas tomam importante papel na polinização de aproximadamente 30% das plantas empregadas na alimentação humana, portanto, devido à perda da biodiversidade tornou-se evidente que os polinizadores nativos necessitam ser protegidos (COBERT, 2000). De acordo com Freitas (1999), as abelhas têm grande importância, pois são agentes de conservação da biodiversidade, e podem ser um dos indicadores biológicos da estabilização ambiental muito benfeitora no esforço da conservação da biodiversidade e exploração sustentável do meio ambiente, podendo a oportuna apicultura estabelecer opções ecologicamente corretas e autossustentáveis de empreender ambientes naturais que não foram degradados, ou restaurar áreas advertidas de erosão genética.

Segundo Souza (2002) a implicação mais importante da implementação da apicultura na região Nordeste do Brasil é a permanência do ecossistema, que devido a carência de alternativa para a sobrevivência do sertanejo tem sido desedificado com a retirada de lenha, desmatamentos e queimadas. A defesa e o uso racional destas áreas concebem a manutenção da vida na região, justificando a importância da implementação da atividade apícola. Várias oportunidades vêm brotando em função da apicultura, o que tem instigado o acrescentamento significativo do número de produtores e de projetos para o desenvolvimento de tecnologias para o aumento da produtividade e melhoria das propriedades do mel de abelhas africanizadas brotados no Nordeste do Brasil. Recentemente a apicultura vem sendo considerada uma das grandes alternativas para as regiões do Semiárido nordestino, podendo ser analisada a que melhor recompensa o produtor, ainda que em anos de adversidades climáticas tão corriqueiras como nesta região. A ampla disparidade de floradas e de microclimas, agrupadas às vastas expansões ainda inexploradas e isentas de atividade agropecuária tecnificadas tornam esta região a de maior potencialidade para o cultivo de mel orgânico em todo o mundo (SEBRAE, 2005).

A apicultura é considerada uma atividade agropecuária, pois possui atributos sustentáveis em vários aspectos: social, econômico e ecológico, visto que acrescenta a renda do produtor camponês, pode ser uma atividade familiar e coopera para a defesa da biodiversidade da flora natural (ALCOFORADO-FILHO, 1998). No que diz respeito ao aspecto econômico e social, a apicultura destaca-se como uma opção de geração de renda e emprego do homem no campo, posto que a cadeia produtiva favorece a criação de postos de trabalho e andamentos de renda durante todo o ano, colaborando para o progresso da qualidade de vida e estabilização do homem no meio rural. Em relação ao aspecto ecológico, a apicultura contribui igualmente para o mantimento e preservação do meio ambiente devido ao enorme desempenho das abelhas como polinizadoras naturais de espécies originárias, beneficiando a estabilização do ecossistema e a conservação da biodiversidade (FREITAS, 2003).

2.4- MEL

A começar do Egito, na era dos faraós, têm-se apontamentos do uso do mel. Na Grécia antiga, Hipócrates, o pai da medicina e outros filósofos chegaram a idades avançadas, atribuídas ao devoto uso do mel. Hipócrates era um dos mais consagrados e estudiosos apicultores. Ao invés de adotar chás e cozimentos, ele decidiu depositar as colmeias próximas

das floradas de alguns vegetais sugeridos, e assim conservar em mel as particularidades medicinais de árvores e arbustos (GONZAGA, 1998).

O mel, um dos alimentos mais antigos ligado à história humana, consecutivamente atraiu a preferência do homem, notadamente pelas propriedades adoçantes. Porém, o uso vai além de alimentos, é também utilizado como medicamento, devido as características antissépticas, novamente empregado conservante de frutas e grãos, e até ainda como dádiva aos deuses (SILVA; QUEIROZ; FIGUEIRÊDO, 2004; BERA; ALMEIDA-MURADIAN, 2007).

Recentemente o homem vem empregando abundantemente o mel como alimento, sem ignorar as propriedades medicinais e sua importância nutricional (ABREU, 2003; MOREIRA & MARIA, 2001). Os atributos medicinais do mel de abelha e diversos outros produtos de colmeia, como exemplo, geleia real, pólen, própolis e larvas de abelha, vem sido referidos pelas abundâncias de finalidades medicinais e nutricionais (SILVA et al., 2006). Após a incidência dos insetos adultos, os próprios são mantidos em gaiolas entomológicas e nutridos com solução de hidromel a 10% para determinar, por exemplo, a longevidade de cada indivíduo (SILVA, 2006) e diagnóstico dos seus semioquímicos (DUARTE et al., 2006). O mel de abelhas é um complemento alimentar que, atualmente vêm ganhando um aumento no consumo comercial decorrente, sobretudo, da verificação científica de distintas propriedades benévolas à saúde (ALLEN et al., 1991). Atualmente, o mel é avaliado um produto natural e tem vários aproveitamentos funcionais; assim sendo, desde a evolução humana o mel já era abrangido por suas aparências sensoriais típicas (LIRIO, 2010).

O mel é um produto viscoso, adoçado e comumente de aroma agradável. É composto, basicamente, por diversos açúcares, com predominância de glicose e frutose, que satisfazem cerca de 70% do total de carboidratos, além de cooperarem na sua doçura (CRANE, 1983; MOREIRA; DE MARIA, 2001). Entretanto, Finola, Lasagno e Marioli (2007) alegaram que esses monossacarídeos alternam de 85% a 95% da totalidade da composição de glicídios no mel, significando a água o segundo maior elemento da composição do mel.

Quando conferido com países desenvolvidos o consumo de mel no Brasil é baixo (60 gramas por pessoa/ano). A população brasileira abrange raro hábito de consumir produtos apícolas induzindo à dependência do mercado externo para fluir o cultivo acumulado (RESENDE; VIEIRA, 2006). A exportação de mel se torna cada vez mais uma opção bem mais favorável para os produtores do que a comercialização no País. Esta preferência pela exportação pode-se explicar pelo enfraquecimento no mercado interno (BUAINAIN; BATALHA, 2007).

2.5- HIDROMEL

O hidromel tornou-se uma das bebidas alcoólicas mais antigas consumida pelo homem, quiçá mesmo bem antes do vinho (BERTELLO, 2001). Antigamente, o uso era generalizado, porém, com o desenvolvimento das culturas e dos recursos agrícolas, desencadeou a mudança do hidromel por outras bebidas, assim como o vinho (PEREIRA, 2008).

O hidromel é produzido por meio da ação das leveduras do gênero *Saccharomyces* na fermentação do mosto composto de mel diluído em água e acrescido com sais minerais (CRANE, 1983; FITE et al., 1991; AQUARONE et al., 2001; NAVRÁTIL et al., 2001). É obtido por meio da fermentação alcoólica de uma dada solução de mel de abelhas, leveduras, sais minerais e água potável, e compreende uma graduação alcoólica entre 4° e 14°GL. Prontamente para a legislação nacional (BRASIL, 1997) é abordada a seguinte definição: hidromel uma a bebida com graduação alcoólica de quatro a quatorze por cento em volume, a 20°C, conseguida pela fermentação alcoólica de uma dada solução de mel de abelha, sais nutrientes e água potável. O hidromel ainda pode ser rotulado em licoroso, seco, doce e espumoso, de acordo com a tecnologia de fabricação. Além dessa formulação principal pode ser adicionado de ervas e/ou frutas, originando bebidas fermentadas das mais variadas tonalidades, atendendo aos mais diversos paladares (VARGAS; GULLING, 1999; SCHRAMM, 2003).

Devido ao sabor e aroma peculiares, e a extensa história de fabricação em nível mundial, permanece ultimamente nichos de comercialização de hidromel estabelecidos por consumidores exigentes por bebidas e alimentos de procedência orgânica, o que estimula ainda mais esse negócio (BERRY, 2007). A estima de negócio para 750 mL de hidromel varia entre US\$ 10.9 e US\$ 20; para produtos analisados *Premium*, esse valor pode chegar aos US\$ 70 (BERRY, 2007). No Brasil, está avaliado entre R\$ 30 e R\$ 40.

Sroka e Tuszynski (2007) explicaram a redução na produção de hidromel na Polônia, país que culturalmente tem a tradição da produção e consumo desta bebida, com a carência de estudos científicos sobre a bebida. Raros estudos têm sido citados na literatura sobre a produção de hidromel, comprovando a necessidade da efetivação de pesquisas que apontem à padronização de parâmetros importantes na sua fabricação.

A análise sensorial determinada pela ISO (*International Standard Organization*) como “o exame das características organolépticas de um produto por meio dos órgãos dos sentidos” é uma ferramenta de extrema importância para definir o grau de aceitação do produto pelo consumidor (PIANA et al., 2004; MIELE, 2006). A influência mútua entre os sentidos do

gosto, olfato, visão e tato possibilita estimar-se a magnitude de atributos como cor, aroma, sabor e adstringência durante a análise sensorial e expor essas características sensoriais com exatidão em termos matemáticos (PIANA et al., 2004).

2.6- LEVEDURAS

Leveduras compõem o mais importante grupo de microorganismos de maneira econômica cultivado pelo ser humano (HORII E OETTRER, 1998). Isto acontece devido a importância para os processos fermentativos para fabricação de vinho, cerveja, álcool combustível e pão (ALEXOPOULOS et al., 1996). São heterotróficos, saprófitos ou parasitas; condicionados de carbono orgânico como fonte de energia e podem ser localizados no solo em ambientes com escassa disponibilidade de água, em agregação com vegetais ou ainda no sistema digestório de animais, assim como unificados a algum substrato que lhe forneça o açúcar (PAHFF, 1990; ALEXOPOULOS et al., 1996; LUCENA, 2004).

2.6.1- *Saccharomyces Cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae é uma levedura vastamente empregada em diversas aplicações industriais, devido especialmente a forte disposição que este microrganismo proporciona de realizar fermentações alcoólicas, originando produtos como vinho, *sake*, pão, cerveja, e álcool combustível. Desse modo, estas leveduras vem sendo abundantemente pesquisadas e empreendidas pela sociedade acadêmica e industrial. Considerando-se a aptidão desta levedura de produzir etanol e sua alta tolerância ao mesmo, foi apontado que esta característica de *S. cerevisiae* admitiria inibir o crescimento de organismos competidores nos ambientes ricos em açúcar onde, geralmente são encontrados (VERSTREPEN, et al., 2003; PIŠKUR, et al., 2006).

Leveduras desta espécie dilataram também capacidades de sobreviver e se adaptar a ambientes severos e estressantes. Visando estas características, supõe-se que o crescimento invasivo possa ser um contragolpe comum em linhagens industriais diploides de *S. cerevisiae*, podendo estar relacionada ao padrão de crescimento desta linhagem na natureza, tal como determinando capacidade de perspicácia em substratos naturais como uvas, cana-de-açúcar, etc. Admite-se também que a migração de linhagens de *S. cerevisiae* do solo para o caule da cana-de-açúcar pode motivar ainda mais a ideia de que a filamentação é um atributo de muita

importância para alguns microrganismos na procura por nutrientes (CECCATO-ANTONINI, 2008).

Em ambientes laboratoriais, as leveduras comumente são mantidas sob temperatura ótima, em meios de cultura líquidos ou em ágar com a precisa umidade e fartos nutrientes. Contudo, quando são cultivadas em ambientes naturais, as leveduras são submetidas a mudanças constantes na umidade, temperatura, ação de compostos tóxicos ambientais ou causados por outros organismos. Para que estes sistemas laborem bem, as leveduras tendem a se arranjar em estruturas tridimensionais, como por exemplo, desenvolvendo biofilmes, colônias, pseudohifas, permitindo que células se particularizem e se instituem em diferentes níveis (PALKOVÁ & VÁCHOVÁ, 2006).

Boa parte do desempenho da levedura *S. cerevisiae* é devido à alta aptidão de fermentar quando sujeita a altas concentrações de açúcar, procedendo em uma produção acelerada de etanol até mesmo na presença de oxigênio (HENSING, 1995). Na fermentação emprega fontes ricas em carbono, como os monossacarídeos (frutose, glicose e galactose) e dissacarídeos (sacarose e maltose) (FLORES *et al.*, 2000). Um açúcar redutor é um hidrato de carbono, que tem um ou mais grupos cetona ou aldeído livres ou virtualmente livres, e que em meio alcalino tem a competência de restringir agentes oxidantes. Açúcares não redutores têm esses grupamentos interligados e tornam-se redutores a partir do instante em que passam por hidrólise e desprendem monossacarídeos nas formas redutoras (VOET *et al.*, 2000). Células de *S. cerevisiae* podem empregar diversos tipos de açúcares como fontes de carbono, já que possuem no genótipo genes que compilam várias enzimas para os múltiplos tipos de açúcares empregados (ERGUN; MUTLU, 2000).

2.7- PROCESSOS FERMENTATIVOS

Tradicionalmente os processos fermentativos, importantes fontes de produtos biológicos, utilizados nas indústrias farmacêutica, química de alimentos, são ainda conhecidos como bioprocessos (OLIVEIRA, 2006), os quais são realizados por microrganismos, abrangem uma série de operações que abarcam a preparação do meio de propagação e produção, a esterilização, a caracterização e o tratamento da matéria-prima, a transformação do substrato em produto, bem como, a separação e purificação do produto adquirido (KOSARIC, 1996). Compreende-se que processos fermentativos precisam ser controlados de forma que os carboidratos sejam assimilados e transformados em etanol e/ou em compostos

almejavéis ao processo, que tornem mínima o desenvolvimento de aromas e sabores não desejáveis (WARD E OWEN, 1991).

A fermentação pode ser regida mediante dois tipos de processos: o descontínuo (batelada), que pode ser simples ou alimentada e o contínuo que emprega biorreator único ou em série, com ou sem reciclo de células. Existem numerosos fatores que afetam a fermentação, entre eles podemos citar: temperatura, concentração de microrganismo no meio, pH, (LIMA *et al*, 2001). Todos estes fatores podem afetar a rentabilidade, ou seja, a eficácia de conversão de substrato em produto. O enfoque deste trabalho foi fermentação descontínua ou batelada (OLIVEIRA, 2006).

A nível industrial, os biorreatores, igualmente nomeados de dornas, que são reatores de aço do tipo tanque agitado, geralmente fechados e mantidos a uma temperatura entre 33 e 35°C até o término do processo, quando a concentração de etanol se estabelece entre 7 e 12° GL. Nas dornas fechadas é frequente a presença de um aparelho de lavagem do gás de saída para recuperação do etanol evaporado. Devido as altas concentrações de açúcares encontradas no mosto de mel, a fermentação tende a ser lenta e demanda cepas escolhidas de leveduras, bem como condições ótimas de pH, temperatura e outros fatores abrangidos no metabolismo das leveduras (RAMALHOSA *et al.*, 2011).

A vagarosidade da fermentação devido as cepas escolhidas poderia permitir o crescimento de bactérias fabricantes de ácidos acético e ácido láctico, derivando em um aumento indesejado da acidez do mosto de mel ao decorrer da fermentação e também a produção de ésteres voláteis (CASELLAS, 2005) que decompõem a qualidade sensorial do hidromel (RAMALHOSA *et al*, 2011). No princípio da fermentação é empregada alta concentração celular inicial (10^6 a 10^7 células/mL) e ao acabamento da fermentação a concentração celular atinge valores 10 a 100 vezes maiores que o inicial (concentração final de 10^8 células/mL) (DUARTE, LOURENÇO e RIVEIRO, 2006).

2.7.1 - Reciclo de Células

Em processos industriais é feito o reciclo de células, ou seja, assim que a fermentação alcoólica finda, as leveduras são abstraídas do vinho por meio de centrifugação, e são reutilizadas com a finalidade de diminuir custos na reposição do fermento e melhores qualidades de operação, devido ao fato dos microrganismos não precisarem do consumo de substrato na fase de crescimento, pois já estão adaptados ao meio fermentativo. As células

precisam ser abstraídas do produto produzido com a finalidade de evitar a contaminação deste (LIMA, 2004).

No processo de reciclo a vazão da saída do reator passa por um separador, e uma bomba, geralmente centrífuga, para o reenvio de células para o reator. No processo de separação das células, usam-se centrífugas, filtros e decantadores (COUTINHO FILHO, 2007). Segundo Furtado e Scandiffio (2006), nos processos convencionais usados por praticamente todas as cerca de 400 usinas brasileiras, o processo de separação do mosto fermentado utilizado é a centrífuga, onde ocorre a separação das leveduras e do etanol.

Aumentando-se a taxa de reciclo celular, a taxa de crescimento celular se torna maior que a taxa de diluição, que causa a diminuição dos efeitos de perturbações e conseqüentemente o aumento da estabilidade do processo, além da economia do substrato, já que as células que adentram no processo em uma alimentação nova consomem substrato para crescer, e as células que retornam ao processo pelo fluxo de reciclo já se deparam aptas à fermentação e habituadas ao meio (BELTER, CUSSTER e HU, 1988).

2.7.2 Fatores que Influenciam os Processos Fermentativos

2.7.2.1- pH

O pH é um fator de muita significância para as fermentações industriais devido à importância tanto na influência da contaminação bacteriana como a sua decorrência sobre a taxa de fermentação, crescimento da levedura e desenvolvimento de subprodutos (SOUZA, 2009).

O pH do mel apresenta variação entre 3,4 e 6,1 com uma média estimada de 3,9 (IURLINA e FRITZ, 2005) e o mosto de mel proporciona baixo poder tamponante. O pH pode decrescer no decorrer da fermentação a um ponto que alcance a atividade das leveduras (RAMALHOSA et al., 2011).

De acordo com Sroka e Tuszynski (2007), a diminuição do pH do mosto de mel pode advir devido a síntese dos ácidos acético e succínico pelas próprias leveduras. Segundo os autores, mostos concentrados beneficiam a produção de ácido acético pelas próprias leveduras, induzindo a uma ampliação na concentração de ácidos graxos não dissociados, que aprazariam a fermentação alcoólica.

As fermentações largueiam numa extensa faixa de valores de pH, sendo a adaptada entre 4 e 5 (LIMA et al., 2001).

Ao proceder das fermentações o pH pode variar por diferentes razões, como mudanças devido ao consumo de fontes de nitrogênio bem como formação de ácidos, a exemplo do acético, láctico, pirúvico, succínico (RIBEIRO, 2010).

De acordo com Rodrigues Filho et.al, (1999) necessita ser feita uma correção do meio para a adaptação do pH, que deve permanecer entre 4 e 5. O meio com o pH abaixo de 4 alarga muito a produção de álcoois superiores, já o meio com pH acima de 5 aumenta a produção de ácido acético e de furfural.

No método de fermentação com reutilização da levedura seu tratamento é feito com ácido sulfúrico com pH de 2,0 a 3,2, durante quase uma hora, visando a diminuição da carga microbiana (LIMA et al., 2001).

2.7.2.2- Temperatura

Durante o processo de fermentação, a temperatura necessita ser continuamente mantida, uma vez que uma pequena alteração pode acarretar danos durante o processo, como por exemplo, inibição do fermento, onde o açúcar permanecerá na dorna, local onde sucede a fermentação (FERMENTEC, 1978).

Pataro e colaboradores (1998) analisaram as particularidades da fisiologia de desenvolvimento de 210 estirpes de leveduras isoladas de um alambique de cachaça de alambique do estado de Minas Gerais. A maior parte das linhagens foi fisiologicamente afeiçãoada às condições ambientais notadas nas dornas de fermentação. Elas foram capazes de desenvolver a 35°C, em meio contendo até 25% de glicose e em concentração de 5 % (v/v) de etanol.

Ribeiro (2006) recomenda que a temperatura adequada para a propagação das leveduras situam-se entre 28° a 30°. Temperaturas mais baixas enfraquecem a atividade do fermento, enquanto as mais elevadas beneficiam o crescimento de bactérias indesejáveis, gerando o enfraquecimento das leveduras.

A temperatura excelente para a fermentação é de 5-10 °C acima do ótimo para o crescimento da levedura, que se encontra na média de 25-30 °C (JONES *et al.*, 1981; WATSON, 1987). ALVES (1994) adverte que estas exposições não se enquadram com o fato de que nas regiões tropicais a temperatura do procedimento espontaneamente chega a 40 °C. STUPIELLO & HORII (1981) asseguram que a reprodução de células pode ocorrer até a temperatura de 38 °C, tendo inibição da propagação a 40 °C e na presença de 8 a 9 % v/v de etanol.

De acordo com Guerra e Barnabé (2005), temperaturas baixas admitem alcançar alto rendimento em álcool e menor perda por evaporação, além de intervir na natureza e coleção de compostos secundários cultivados. Deste modo, os ésteres responsáveis pelo aroma frutado são desenvolvidos em maior abundância em vinhos que fermentaram a temperaturas mais baixas (GUERRA; BARNABÉ, 2005), o que pode ser um fator de caráter prático na produção de hidromel.

Segundo Lima, (2001) as temperaturas excelentes para a produção industrial de etanol se estabelecem em torno de 26 a 35°C, mas não raramente, a temperatura nas destilarias alcança 38°C. À medida que a temperatura aumenta, alarga a velocidade da fermentação, mas beneficia a contaminação bacteriana, posto que a levedura fica mais compassiva à toxidez do etanol.

2.7.2.3- Agitação (Aeração)

Segundo Chaves (2006), a aeração é uma pratica que consiste em colocar ar no mosto no início da fermentação, a fim de beneficiar o acréscimo de leveduras e, por conseguinte, favorecer a modificação completa dos açúcares fermentáveis.

De acordo Cardoso (2007), a levedura tem dois tipos de metabolismo celular: fermentativo e oxidativo. O metabolismo oxidativo acontece na presença de oxigênio, posto que a levedura possa proporcionar o efeito “pasteur” oxidando os carboidratos por respiração e instigando a multiplicação intensa. Todavia na falta de oxigênio o metabolismo passa a ser fermentativo, ocorrendo assim a produção de etanol e gás carbônico. O gás carbônico composto na aeração de modificação de sacarose em etanol coopera para a conservação da anaerobiose na dorna de fermentação.

Para Chaves (2006), a aeração do mosto enriquece a multiplicação do fermento. Isso pode ocorrer pelo desenvolvimento de uma espécie de chuveiro para a abertura do mosto na dorna; para Espinoza, (2006), a aeração é indispensável na fase de propagação, promovendo o aumento do número de células.

2.7.3 Fermentação em Descontínuo ou Batelada (*Batch*)

A fermentação em batelada é a mais adequada quando se tem problemas de conservação e de assepsia, pois ao final de cada processo o reator deve ser devidamente esterilizado junto com o novo meio de cultura, para receber o novo inóculo (SCHMIDELL E FACCIOTTI, 2001). O modo de operação da batelada pode ser descrito da seguinte maneira:

inicialmente, a solução nutriente esterilizada no fermentador é inoculada com microrganismos e incubada, de maneira que a fermentação suceda sob condições ótimas (BORZANI et al., 2001).

A fermentação em batelada pode levar a baixas rentabilidades e produtividades, pois o substrato adicionado de uma só vez no princípio da fermentação desempenha efeitos de inibição, diminuição ou desvia o metabolismo celular a produtos que não interessam (CARVALHO E SATO, 2001a). A condução da fermentação por processo em batelada praticamente só incide em escala de laboratório e em pequenas destilarias de aguardente (PACHECO, 2010).

2.7.4 Fermentação em Descontínuo Alimentado ou Batelada Alimentada (*Fed-Batch*)

Os processos em batelada alimentada, também conhecidos como *fed-batch* tem mostrado grande importância na maioria dos processos fermentativos, inclusive nos de fermentação alcoólica. Além de apresentar um menor risco de contaminação, apresenta grande facilidade de operação, pois permite a utilização dos fermentadores para a produção de diversos produtos, pela probabilidade de realizar fases contínuas no mesmo recipiente e pela habilidade de identificar todos os materiais incluídos quando se está desenvolvendo um certo lote de produto (CARVALHO e SATO, 2001a).

O processo em *fed-batch* é benevolente para o estudo da cinética de processos fermentativos, pois possibilita a manutenção de baixos níveis de substrato por longos períodos de tempo, o que é favorável a avaliação de parâmetros cinéticos, também permite cultivar a concentração celular constante e controlar velocidades de crescimento em condições transientes. Do mesmo modo, há realces que as máximas velocidades de alguns processos podem ser localizadas unicamente nestas circunstâncias (BORZANI et al., 2001). É plausível trabalhar com altas concentrações de substrato, o que conseqüentemente leva ao aumento da produtividade do etanol e à diminuição da quantidade de vinhaça produzida e do volume necessário de reatores (IMPE VAN *et al.*, 1994; QUEINNEC e DAHHOU, 1994). A vazão de alimentação pode ser constante ou alterar com o tempo; já a adição de mosto pode ser de forma ininterrupta ou intermitente. É presumível controlar a concentração de substrato no fermentador, devido à maleabilidade de utilização de distintas vazões de enchimento dos reatores com meio nutriente, de maneira a permitir que o metabolismo microbiano seja deslocado para uma definida via metabólica, levando ao acúmulo de um produto específico (CARVALHO e SATO, 2001b).

A batelada alimentada possibilita o controle da concentração de açúcar, tornando mínimos os efeitos de inibição pelo substrato e possibilitando a adição do mesmo nos momentos mais favoráveis no decorrer da fermentação (MCNEIL e HARVEY, 1990).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a cinética e os parâmetros fermentativos, e comparar os perfis sensoriais de hidromel produzidos sob determinadas condições, com o uso de duas cepas de *Saccharomyces cerevisiae* diferentes.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar a cinética da fermentação do Hidromel utilizando leveduras do tipo *Saccharomyces cerevisiae*, sendo uma levedura comercial (Safbrew T-58) e outra levedura industrial (JP1);
- Produzir Hidromel empregando a linhagem da levedura *Saccharomyces cerevisiae* que apresentar os melhores resultados de cinética fermentativa;
- Estimar o rendimento, a eficiência e a produtividade da fermentação alcoólica no processo de produção do Hidromel;
- Avaliar a análise sensorial dos produtos elaborados, analisando e selecionando, separadamente, a melhor formulação.

4 METODOLOGIA

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido - UFCG Campus Sumé, onde foram realizados os ensaios fermentativos. A fermentação alcoólica foi conduzida com cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, no período de março de 2014 a abril de 2015.

4.1- MATÉRIA-PRIMA

Foram utilizados frascos de mel originários da Caatinga, obtidos no mercado local e transportados ao laboratório, onde passaram por diluição e sanidade adequadas.

4.2- MICRORGANISMOS

Na fermentação foram avaliadas duas linhagens diferentes de levedura *Saccharomyces cerevisiae*, sendo uma comercial - Safbrew T-58 (fermento Fermentis T-58 envelope 11,5g) - e a outra industrial - FER.SC18/JP1 (O nome JP1 faz referência a Destilaria Japungú, na Paraíba, sendo a primeira levedura *Saccharomyces cerevisiae* selecionada em carácter comercial na região Nordeste do Brasil. É uma levedura adaptada a fermentações com temperaturas elevadas, entre 34 a 40°C).

4.2.1- Propagação Da Levedura JP1

Para a propagação da levedura JP1 foi utilizado caldo de cana, o qual foi centrifugado a 2000 rpm por 20 minutos e em seguida filtrado. Depois de filtrado, o precipitado foi autoclavado a 121°C, por 20 minutos. Logo após, foi feita a inoculação da JP1 ao meio de cana de açúcar, o qual foi incubado durante 72h sob agitação de 120rpm e temperatura entre 28 e 30°C. Posteriormente, o inoculo foi retirado do *Shaker*, centrifugado a 2000 rpm por minutos. O sobrenadante foi descartado, o pellet foi acrescido de Glicerol (concentração final 30%) e congelado.

4.3- ETAPAS *UPSTREAM*

As etapas *Upstream* foram as etapas que antecederam o Biorreator.

4.3.1- Preparo do Mosto

O mel foi diluído em água destilada, até atingir 30°Brix. O pH e °Brix foram ajustados para 4,5 e 30, respectivamente. Posteriormente, todo material foi autoclavado a 121°C, por 20 minutos, dentro do reator.

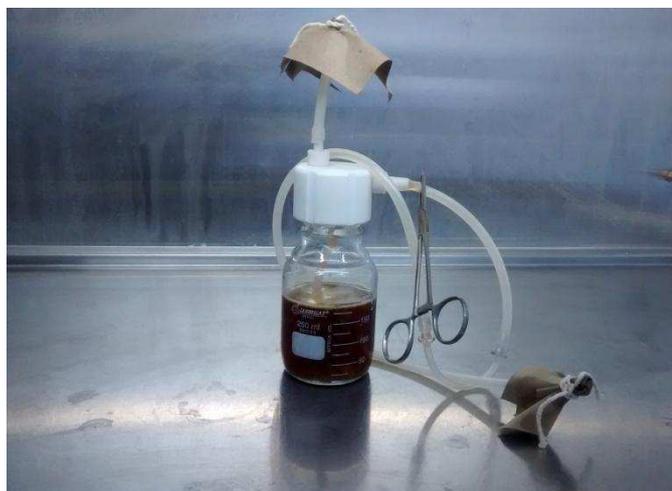
4.3.1.1- Adequação do pH

Os valores de pH, após a diluição do mosto foram ajustados para 4,5 em pHmetro digital PH 2600 da marca Instrutherm. Para adequação do pH foi utilizado suco de limão e bicarbonato de sódio.

4.3.2- Preparo do Inoculo (Levedura Saffbrew T-58)

O meio para o inoculo foi preparado e reservado em um recipiente próprio para a inoculação (Figura 2), o qual teve o pH e °Brix ajustados para 4,5 e 30, respectivamente, em seguida foi devidamente esterilizado em autoclave a 121°C, por 20 minutos, posteriormente cerca de 1,5g de levedura foi adicionada ao frasco para inoculo, sendo que essa etapa necessitou ser realizada em câmara de fluxo laminar para evitar contaminações. Em seguida, o inoculo foi adicionado imediatamente ao reator por uma entrada apropriada do biorreator.

Figura 2: Frasco para inoculação



4.3.3- Preparo do Inoculo (Levedura JP1)

O meio para o inoculo foi preparado, o qual teve parte reservada em um recipiente próprio para a inoculação (100 mL) e parte reservada em um Erlenmeyer (100 mL), o qual teve o pH e °Brix ajustados, em seguida ambos os frascos foram devidamente esterilizados em autoclave a 121°C, por 20 minutos. Em seguida, foi adicionado 1 mL da levedura ao Erlenmeyer que continha o mosto e o mesmo foi colocado no *Shaker* por 48 horas, com temperatura entre 28 e 30°C, sob agitação de 120 rpm. Após as 48 horas, o Erlenmeyer foi retirado do *Shaker* e o conteúdo foi transferido para o frasco próprio para inoculo, no qual foi colocado em *Shaker* por 24 horas com temperatura entre 28 e 30°C, sob agitação de 120 rpm para haver a propagação de células. Estas etapas necessitaram ser realizadas em câmara de fluxo laminar para evitar contaminações. Posteriormente, o inoculo foi adicionado imediatamente ao reator por uma entrada apropriada do biorreator.

4.3.4- Processo de Fermentação de Forma Descontínua

A fermentação foi conduzida em um Biorreator de bancada de 1,2 L, marca TECNAL, modelo Biotec-C (Figura 3). Após preparo do mosto, parte deste foi deixada no reator (1000 mL), o qual passou pelo processo esterilização em autoclave a 121°C, por 20 minutos. Posteriormente, o inoculo foi adicionado ao reator por uma entrada própria do biorreator e a partir de então, o biorreator foi devidamente ajustado para iniciar a fermentação de forma descontínua. Desta forma, deu início a fermentação que decorreu entre 28 e 30°C, com agitação de 120 rpm, onde a cada 24h foi retirada uma amostra (10 mL) para verificar a concentração celular e o °Brix. Ao final do processo, o mosto foi retirado do reator e passou pelos processos de clarificação.

Figura 3: Biorreator de bancada



4.3.5- Processo de Fermentação de Forma Descontínua Alimentada

O processo foi conduzido de maneira semelhante ao da fermentação descontínua (4.3.4), sendo que após preparo do mosto, parte deste foi deixada no reator, outra parte foi reservada em um frasco apropriado, para ser diariamente alimentado ao biorreator (800 mL), e em seguida foi feita a esterilização deste material em autoclave a 121°C, por 20 minutos. Após a esterilização, o inoculo foi adicionado ao reator e a partir de então, o biorreator foi devidamente ajustado para iniciar a fermentação de forma descontínua alimentada.

4.3.6- Reciclo De Células

A fermentação foi conduzida em um Biorreator de bancada de 1,2L, marca TECNAL, modelo Biotec-C. Após o término da fermentação, as leveduras foram reutilizadas nos ensaios posteriores. Para as duas fermentações, após o encerramento do processo, as leveduras foram separadas por centrifugação.

Para os ensaios que continham a levedura comercial (Safbrew T-58), após a centrifugação, as leveduras foram conservadas em placas de Petri devidamente esterilizadas, onde o meio de cultura utilizado foi o próprio mosto e as mesmas foram reutilizadas nos processos seguintes.

Para os ensaios que empregaram a levedura industrial (JP1), após a centrifugação, as leveduras foram inoculadas no frasco próprio para inóculo que continha o mosto (200 mL), o qual foi agitado a 120 rpm por aproximadamente 72h. Posteriormente, o inóculo foi retirado do *Shaker* e inoculado por uma entrada própria do Biorreator.

4.3.7- Determinação da Concentração Celular e do °BRIX

A concentração celular e determinação das concentrações de açúcares foram realizadas por meio de filtração a vácuo e estão expressas em número de células por litro e em porcentagem, respectivamente.

Para a concentração celular, a cada 24h era retirada uma alíquota do biorreator (10 mL) que foi filtrada a vácuo. As células que ficavam retidas no papel filtro eram levadas para secar em uma estufa a 50°C e após 24 horas eram medidas por gravimetria em balança analítica e depois da pesagem era subtraído o peso do papel filtro.

Para a determinação das concentrações de solutos, após a filtração, era feita uma leitura direta do filtrado no refratômetro de bancada marca Abbe EEQ9006B.

4.4- ETAPAS *DOWNSTREAM*

As etapas *Downstream* foram as etapas após o Biorreator.

4.4.1- Clarificação

A clarificação, operação que consiste em clarear líquidos turvos, foi realizada em duas etapas: centrifugação e filtração, que estão descritas a seguir.

4.4.1.1- Centrifugação

Após o término de cada fermentação e encerramento do processo, o fermentado foi retirado do reator e colocado em centrífuga Logen Scientific Alpax a 2000 rotação por minuto durante 20 minutos, onde o sobrenadante foi filtrado e o pellet (leveduras) foi reutilizado nos ensaios seguintes.

4.4.1.2- Filtração

Após a centrifugação, o sobrenadante passou pela última etapa de clarificação, que foi o processo de filtração a vácuo, com papel filtro de poro 28µm, onde depois de filtrado o fermentado foi armazenado para ser apreciado pelos consumidores.

4.4.2- Determinação Do Etanol

Parte do fermentado após o final da filtração foi reservada (500mL) para destilação, pois o densímetro não conseguia medir o teor alcoólico por conta da densidade do líquido. A destilação ocorreu em escala laboratorial em um alambique artesanal (Figura 4). Posteriormente, o teor alcoólico do destilado foi determinado por meio de leitura direta, utilizando um densímetro em escala Gay-Lussac.

Figura 4: Alambique artesanal



4.5- PARÂMETROS FERMENTATIVOS

4.5.1- Rendimento de Substrato em Produto

O fator de rendimento das fermentações alcoólicas foi calculado a partir da Equação 1:

$$Y_{p/s} = \frac{P_f - P_i}{S_i - S_f} \quad (1)$$

Em que:

$Y_{p/s}$: rendimento

P_f : concentração final de etanol [g/L]

P_i : concentração inicial de etanol [g/L]

S_i : concentração inicial de açúcares

S_f : concentração final de açúcares

4.5.2- Eficiência (η)

A eficiência das fermentações alcoólicas foi calculada com base no rendimento teórico proveniente da equação de Gay-Lussac e de acordo com a Equação 2:

$$\eta = \frac{Y_{p/s, \text{obtido}}}{Y_{p/s, \text{teórico}}} \times 100 \quad (2)$$

Em que:

$$Y_{p/s, \text{teórico}} = 0,511 \text{ g/g}$$

4.5.3- Produtividade

A produtividade em etanol foi calculada conforme a Equação 3:

$$Q_p = \frac{P_f - P_i}{t} \quad (3)$$

Em que:

Q_p : produtividade

P_f : concentração final de etanol [g/L]

P_i : concentração inicial de etanol [g/L]

t: tempo de fermentação [h]

4.6- ANÁLISE SENSORIAL

Para realização da análise sensorial, o projeto foi submetido à avaliação do comitê de ética e a aprovação está registrada na Plataforma Brasil sob o número de Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) 44820715.9.0000.5185.

Os testes sensoriais foram realizados no Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, na Universidade Federal de Campina Grande localizado no município de Sumé – Paraíba. Inicialmente foram recrutados por meio de questionários os possíveis provadores para participarem dos testes sensoriais. Foram incluídos como provadores, indivíduos maiores

de 18 anos que faziam o uso de produtos à base de mel e que não apresentaram nenhum tipo de intolerância a este produto.

Os provadores receberam todas as informações da análise sensorial e receberam um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo I) o qual foi elaborado em duas vias, rubricadas em todas as suas páginas e assinadas, ao término da análise, pelo provador, ou por seu representante legal, assim como pelo pesquisador responsável. Em ambas as vias constaram o endereço e contato telefônico dos responsáveis pela pesquisa.

Foram avaliados os atributos “aparência geral”, “cor”, “aroma”, “sabor” e “aceitação global” das amostras de hidromel, por um grupo de 20 provadores não treinados (alunos e funcionários da instituição). Para esta análise foi utilizada a escala hedônica (consiste basicamente em apresentar as amostras dos produtos, de maneira inteiramente ao acaso, aos provadores e perguntá-los sobre a preferência entre elas, de acordo com uma escala estabelecida, baseada nos atributos gosta e desgosta. Os pontos da escala são distinguidos verbalmente, de modo que possam ser associados a valores numéricos, possibilitando a análise estatística dos resultados) estruturada de 9 pontos, variando de 1 “desgostei muitíssimo” a 9 “gostei muitíssimo”. O teste de intenção de compra foi realizado utilizando escala estruturada de 5 pontos, variando de 1 “certamente não compraria” a 5 “certamente compraria”.

As amostras foram servidas em copos descartáveis com capacidade para 50 mL, codificados com algarismos de três dígitos escolhidos aleatoriamente, e apresentadas aos provadores juntamente com água e formulário de avaliação (Anexo II). Os provadores fizeram uma pausa entre uma análise e outra, servindo-se da água e biscoito água e sal no intuito de limpar o palato e assim minimizar o sabor residual deixado na boca pela amostra anterior.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados da análise sensorial dos fermentados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de Fisher com significância de 5% de probabilidade ($p < 0,05$), com o auxílio do *software* estatístico *Origin 8.0*.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

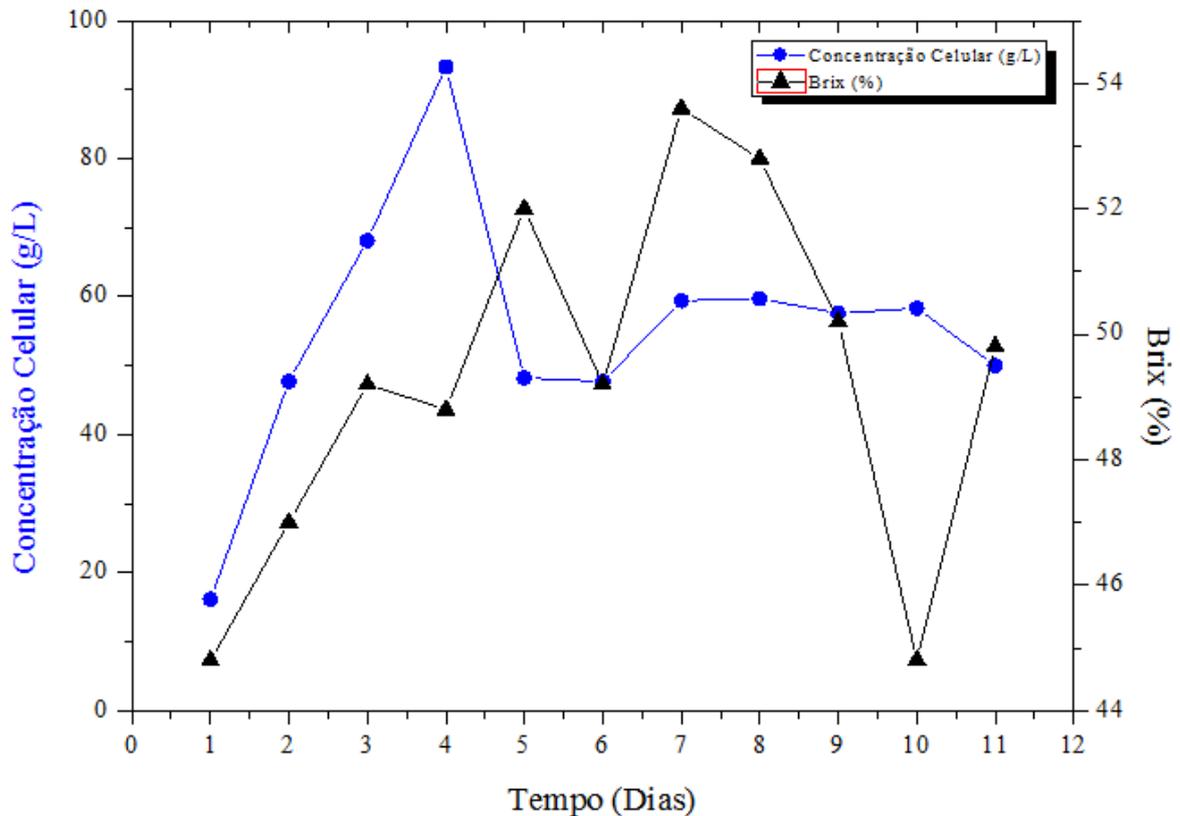
A fim de avaliar a fermentabilidade do Hidromel, foi realizada a fermentação em ensaios de forma descontínua e descontínua alimentada, utilizando como agente fermentador, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* dos tipos Safbrew T-58 e JP1.

5.1- CINÉTICA DE FERMENTAÇÃO PARA PRODUÇÃO DE HIDROMEL REALIZADA EM ENSAIOS DE FORMA DESCONTÍNUA E DESCONTÍNUA ALIMENTADA, UTILIZANDO AS LEVEDURAS SAFBREW T-58 E JP1

5.1.1- Cinética De Fermentação De Forma Descontínua E Descontínua Alimentada Levedura Safbrew T-58

Por meio do Gráfico 1 pode-se observar o crescimento microbiano e o consumo de glicose da produção de Hidromel referentes ao ensaio fermentativo descontínuo.

Gráfico 1: Curva de crescimento da Safbrew T-58 e da variação da concentração de solutos (°Brix), em função do tempo.



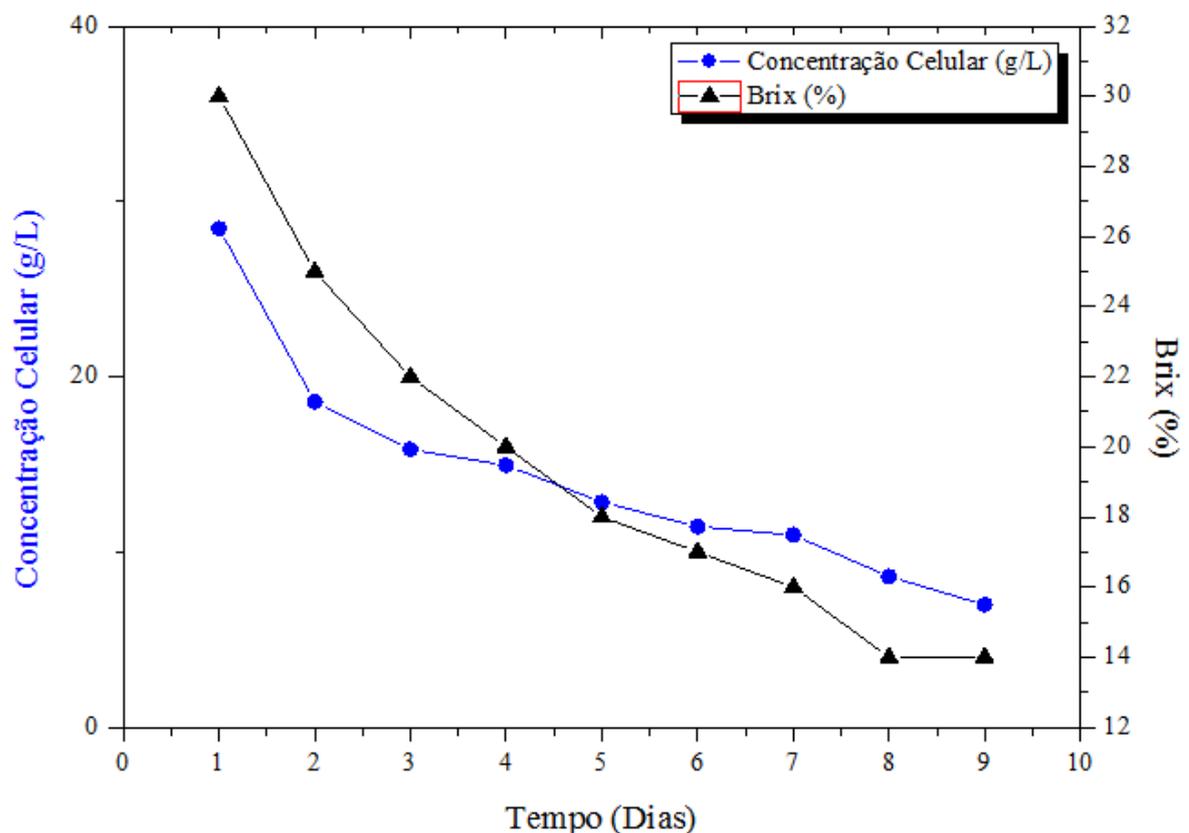
A partir do segundo dia verifica-se a fase exponencial, que é a fase em que o etanol começa a ser produzido, na qual seu pico de produção celular foi observado no quarto dia, que chegou a 93,3 g/L. A partir de então houve uma brusca diminuição de células, que pode ser

justificada pelo aumento da temperatura ou estresse da levedura devido ao aumento da concentração de metabólitos, como etanol e CO_2 , por exemplo, ou pela redução na quantidade de nutrientes do substrato. Do sétimo ao nono dia foi possível identificar a fase estacionária, Pereira e colaboradores (2009) afirmam que, a produção de etanol no hidromel pode ainda ser observada ao longo desta fase. Posteriormente, observa-se a fase de declínio.

Com relação ao °brix, o consumo permaneceu praticamente inconstante durante todo o processo.

Por meio do Gráfico 2 pode-se observar o crescimento microbiano e o consumo de glicose da produção de Hidromel referentes ao ensaio fermentativo descontínuo.

Gráfico 2: Curva de crescimento da Safbrew T-58 e da variação da concentração de solutos, em função do tempo.



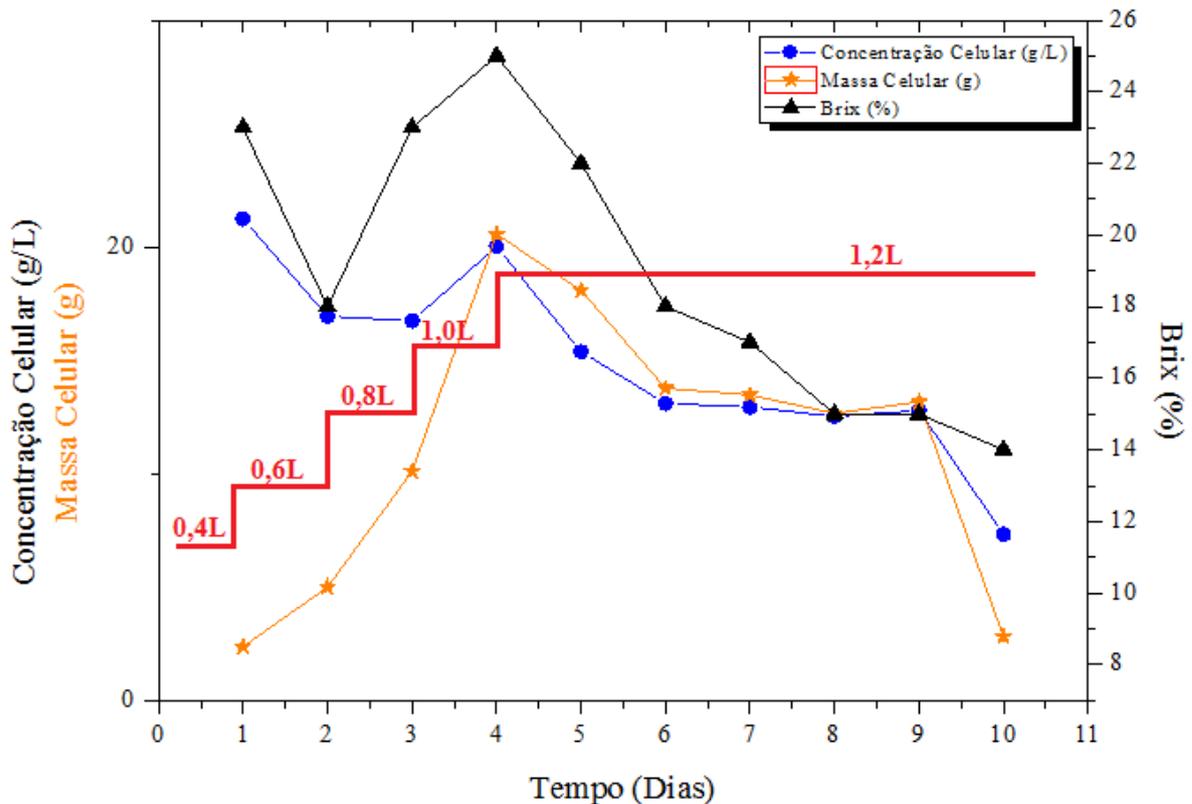
No ensaio realizado em duplicata, observa-se que o número de células diminuía constantemente, o que de acordo com Gibson e colaboradores (2007), pode ser justificado pelo fato de altas concentrações de sólidos dissolvidos no mosto conduzirem a fermentações incompletas, já que as células tornam-se vulneráveis a diversos mecanismos de estresse, entre

eles, o aumento da pressão osmótica externa e altas concentrações de etanol, os quais podem afetar o desempenho da levedura.

Com relação a concentração de solutos (°Brix), é possível verificar que o substrato foi sendo totalmente consumido, levando a uma conversão de substrato em produto eficiente, podendo induzir a um menor tempo de fermentação e otimização do processo, pois o produto será obtido em um curto período.

Por meio do Gráfico 3 pode-se observar o crescimento microbiano e o consumo de glicose da produção de Hidromel referentes ao ensaio fermentativo de forma descontínua alimentada.

Gráfico 3: Curva de crescimento da Safbrew T-58 e da variação da concentração de solutos, em função do tempo. A linha vermelha indica o volume no Biorreator em relação ao tempo.



Com relação a concentração celular, o gráfico demonstra que à medida que ocorria a alimentação, houve um decréscimo entre o primeiro e o segundo dia, e a partir de então a concentração celular aumentou, sendo que no quarto dia de alimentação houve um pico de produção celular. Do sexto ao nono dia, podemos identificar a fase estacionária, que também foi identificada como fase produtora de etanol. A partir de então, podemos identificar a fase de declínio.

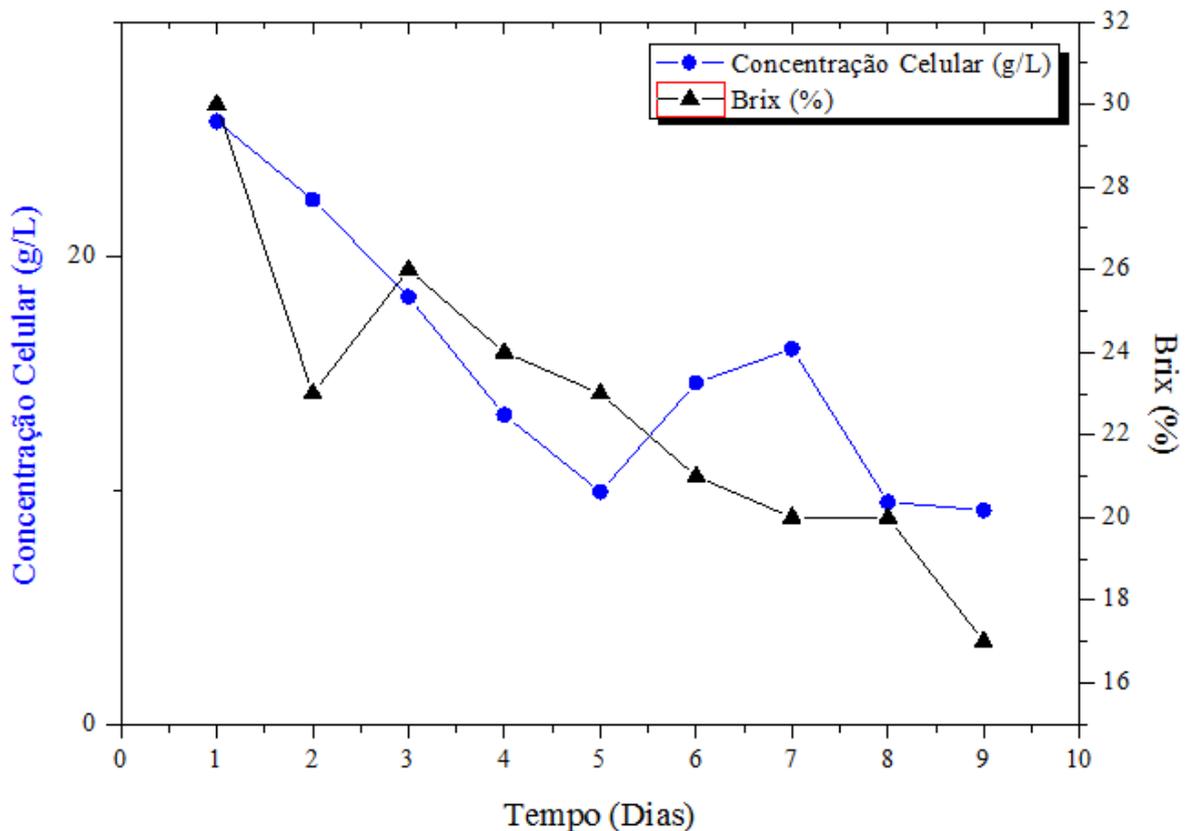
Com relação a massa celular, no período entre o primeiro ao quarto dia foi possível identificar a fase *log*. Do sexto ao nono dia, identificamos a fase estacionária, e a partir de então, a fase de declínio.

Já com relação a concentração de solutos, ocorreu uma variação durante a alimentação e a partir do sexto dia, quando o volume permaneceu constante, o substrato foi sendo totalmente consumido, podendo ocasionar um menor tempo de fermentação e otimização do processo.

5.1.2- Cinética De Fermentação De Forma Descontínua E Descontínua Alimentada Levedura JP1

Por meio do Gráfico 4 pode-se observar o crescimento microbiano e o consumo de glicose da produção de Hidromel referentes ao ensaio fermentativo descontínuo.

Gráfico 4: Curva de crescimento da JP1 e da variação da concentração de solutos, em função do tempo.



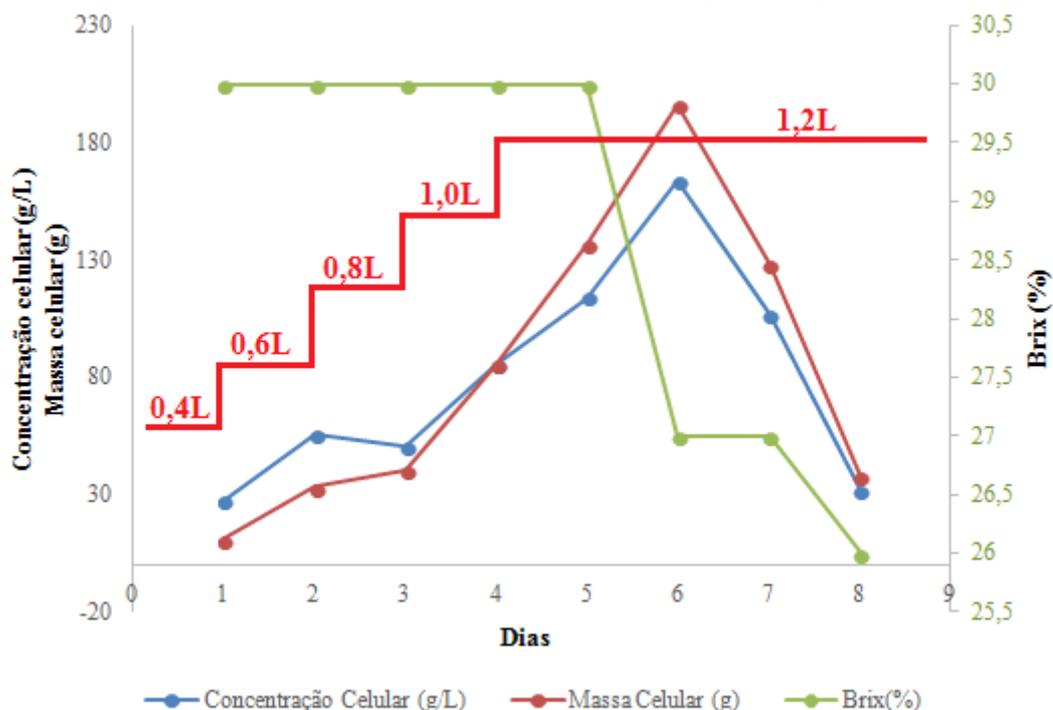
Podemos analisar que houve uma diminuição celular do primeiro ao quinto dia, o que segundo Ribeiro (2010), pode ser explicado devido ao fato de valores entre 350 a 500 g.L⁻¹ de açúcares redutores totais (ART) tornarem o crescimento celular impossível devido à desidratação ocasionada pelo estresse osmótico. A partir do quinto dia de fermentação

podemos identificar a fase exponencial, que durou três dias e pode ser justificada pelo fato de as leveduras “sobreviventes” terem usados os fragmentos das que não sobreviveram como fonte de alimentação para conseguirem se multiplicar.

Com relação a concentração de solutos (°Brix), é possível verificar que o substrato vai sendo totalmente consumido, levando a uma conversão de substrato em produto eficiente, podendo induzir a um menor tempo de fermentação e otimização do processo, pois o produto será obtido em um curto período de tempo.

Por meio do Gráfico 5 pode-se observar o crescimento microbiano e o consumo de glicose da produção de Hidromel referentes ao ensaio fermentativo descontínuo alimentado.

Gráfico 5: Curva de crescimento da JP1 e da variação da concentração de solutos, em função do tempo. A linha vermelha indica o volume no Biorreator em relação ao tempo.

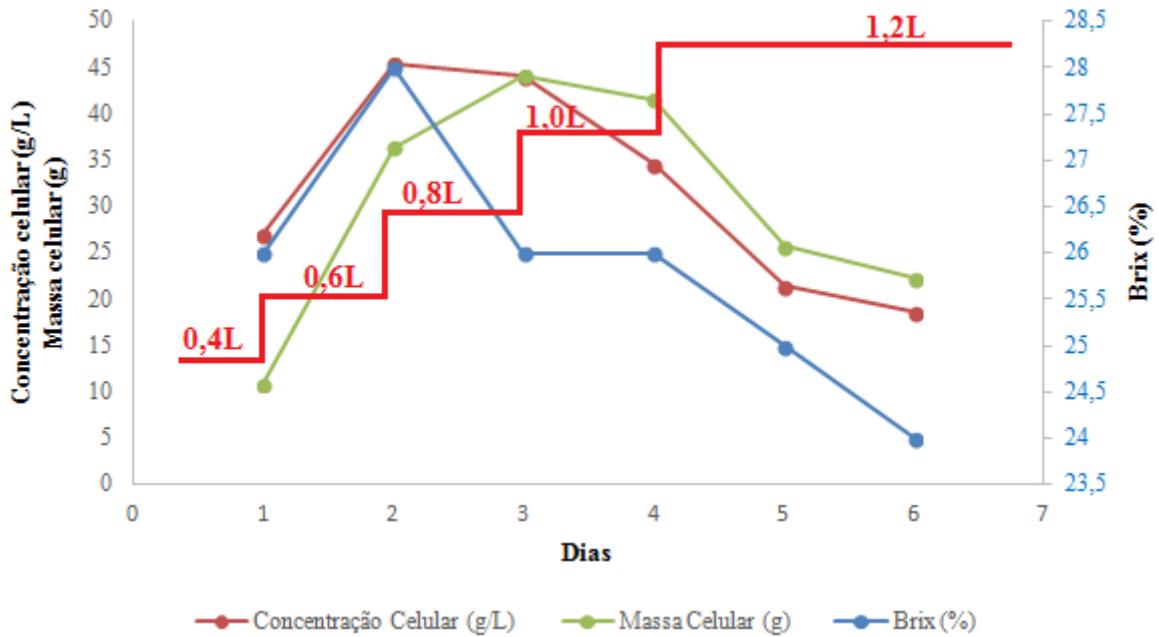


Os valores de concentração e massa celular permaneceram praticamente idênticos, sendo que a fase *lag* pode ser observada do primeiro ao terceiro dia. A medida que ocorria a alimentação pode-se observar a fase exponencial a partir do terceiro dia, na qual seu pico de produção celular foi no sexto dia, e a partir de então, entrou na fase de declínio.

Com relação a concentração de solutos, o consumo permaneceu praticamente constante do primeiro ao quinto dia, e a partir de então, pode ser observado o consumo do substrato.

Por meio da Gráfico 6 pode-se observar o crescimento microbiano e o consumo de glicose da produção de Hidromel referentes ao ensaio fermentativo de maneira descontínuo alimentado com reciclo de células.

Gráfico 6: Curva de crescimento da JP1 e da variação da concentração de solutos, em função do tempo. A linha vermelha indica o volume no Biorreator em relação ao tempo.



No segundo dia, nota-se um pico na concentração celular, o que pode ser justificado pelo fato do processo ser com reciclo de células e a levedura estar adaptada as condições de meio. Posteriormente, verifica-se que houve uma diminuição no número de células, o que pode estar relacionado ao aumento da temperatura, ao estresse da levedura por advir de outro processo ou pela redução na quantidade de nutrientes do substrato.

Em relação a massa celular, nota-se que houve um aumento do primeiro ao terceiro dia, e a partir de então, entrou na fase de declínio.

Com relação a concentração de solutos, a partir do segundo dia o substrato começou a ser consumido.

5.2- PARÂMETROS FERMENTATIVOS

A partir das concentrações iniciais e finais de células, °Brix, etanol e do tempo final de fermentação, os parâmetros fermentativos foram calculados por meio das equações exibidas no item 4.5 e os resultados encontram-se nas Tabelas 2 e 4.

Tabela 1: Caracterização do mosto no processo de produção de hidromel para a levedura Safbrew T-58.

Levedura Safbrew T-58							
Características	Concentração Celular (g/L)		°Brix (%)		Etanol (°GL)		Tempo de Fermentação (h)
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	
1-Descontínuo	16,1	50	44,8	49,8	0,0	4,8	336
2-Descontínuo	28,46	7,0	30	14	0,0	13	216
3-Descontínuo Alimentado	21,24	7,31	23	14	0,0	14	264
Média	21,93	21,44	32,6	25,93	0,0	10,6	272

A análise destes resultados demonstra que a levedura Safbrew T-58 apresentou melhor desempenho fermentativo em mosto constituído de mel entre 23 e 30 °Brix. Desta forma, estas condições foram adotadas no sentido de avaliar o processo de produção de Hidromel.

Em relação a quantidade de solutos consumidos (°Brix inicial - °Brix final), observa-se que ao final das três fermentações a média dos valores obtidos apontam que 20,46% destes foram metabolizados, produzindo em média 10,6 °GL, o que demonstra que a levedura apresentou um bom desempenho relacionado ao etanol. Com relação ao tempo, observa-se que as fermentações foram mais rápidas ao longo das fermentações com reciclo de células (2ª e 3ª fermentação), devido, possivelmente, a adaptação da levedura às condições do processo. Verifica-se ainda que a produção de etanol pela levedura Safbrew T-58 foi maior nos mostos com °Brix entre 23 e 30, com reciclo de células. Estes resultados permitiram estimar o desempenho fermentativo da levedura Safbrew T-58 ao longo das três fermentações, por meio da determinação do fator de rendimento (Y_p/s), eficiência (η) e produtividade (Q_p), cujos resultados encontram-se apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Parâmetros fermentativos referentes a levedura Safbrew T-58

Características	Rendimento ($Y_{p/s}$) [g/g]	Eficiência (η) [%]	Produtividade (Q_p) [g/L.h⁻¹]
1-Descontínuo	0,96	18,78	0,01
2-Descontínuo	0,75	14,68	0,06
3-Descontínuo Alimentado	1,56	30,44	0,05
Média	1,09	21,3	0,04

Estes resultados permitem observar que os valores do fator de rendimento, bem como da eficiência da fermentação alternaram ao longo do ciclo das três fermentações, ao passo que a produtividade aumentou progressivamente.

Desta forma, observa-se que a variação da produtividade entre a primeira e a terceira fermentação foi superior, o que se deve a redução do tempo de fermentação (Tabela 1) devido a adaptação da levedura às condições do processo. Avaliando-se o parâmetro produtividade, verifica-se que a levedura Safbrew T-58 se desenvolveu melhor no meio constituídos de mel 30 °Brix, com reciclo de células. Com relação aos parâmetros rendimento e eficiência de fermentação nota-se que a levedura Safbrew T-58 apresentou melhor desempenho nos mostos constituídos de mel com 23 e 30 °Brix. Assim, verificou-se a conversão do açúcar em etanol conferindo um maior rendimento e eficiência da fermentação, porém, inibiu a capacidade da levedura em consumir o açúcar presente no meio constituído de 44,9 °Brix.

Bortilini, Sant'anna e Torres (2001) analisando o comportamento das fermentações alcoólica e acética em mosto ordenado com suco de kiwi, descobriram valores de rendimento e eficiência da fermentação alcoólica que alteraram de 0,39 a 0,47 g/g e 75,62 a 92,41%, respectivamente, sendo a eficiência bem maior do que a encontrada neste trabalho (18,78 a 30,44%), porém os valores de rendimento encontrados foram superiores (0,96 a 1,56). Entretanto, os valores de produtividade citados por estes autores variaram de 0,74 a 2,00 g/L.h⁻¹, por conseguinte superiores aos conseguidos no presente trabalho (0,01 a 0,05 g/L.h⁻¹). Valores inferiores, que alternaram de 0,10 a 0,28 g/L.h⁻¹, também foram referidos por Tessaro e colaboradores (2010) ao fazerem avaliação do processo de produção de vinagre a partir de mosto formulado com suco de laranja empregando *Saccharomyces cerevisiae* obtido a partir de fermento biológico comercial, como agente de fermentação.

Ilha e colaboradores (2008) ao estudarem os parâmetros fermentativos alcançados na produção de hidromel obtiveram valores de rendimento (0,41 g/g) e eficiência (81,27%) superiores aos encontrados no presente trabalho. Todavia, segundo Hashizume (1983), mesmo

em condições experimentais bem controladas, o rendimento superior não extrapola 0,48 g/g e, em processos industriais, o rendimento é ainda menor.

Desta forma, os valores obtidos para os parâmetros fermentativos avaliados demonstram que a levedura Safbrew T-58 apresentou um desempenho fermentativo considerado médio, necessitando de suplementação do meio.

Tabela 3: Caracterização do mosto no processo de produção de hidromel para a levedura JP1.

Levedura JP1							
Características	Concentração Celular (g/L)		°Brix (%)		Etanol (°GL)		Tempo de Fermentação (h)
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	
1-Descontínuo	25,74	9,13	30	17	0,0	16	216
2-Descontínuo	9,48	31,60	30	26	0,0	18,88	240
3-Descontínuo Alimentado	31,60	18,6	26	24	0,0	24,6	144
Média	22,27	19,78	28,67	22,33	0,0	19,83	200

Com relação aos açúcares consumidos, os valores obtidos nos ensaios foram comparáveis aos da levedura Safbrew T-58. A análise destes resultados demonstra que a levedura JP1 apresentou ótimo desempenho fermentativo em todos os valores de °Brix, sendo o melhor desempenho no mosto constituído de mel entre 26°Brix, o que pode ser justificado pelo fato da levedura estar adaptada as condições de meio.

Em relação a quantidade de solutos consumidos (°Brix inicial - °Brix final), observa-se que ao final das três fermentações a média dos valores obtidos apontam que 22,11% destes foram metabolizados, o que demonstra que a levedura JP1 teve um melhor desempenho com relação a levedura Safbrew T-58 (Tabela 1).

Com relação ao tempo, observa-se que as fermentações foram mais rápidas ao longo das fermentações da levedura JP1 quando comparada a Safbrew T-58, que foram em média 208 e 272h, respectivamente. Verifica-se ainda que a produção de etanol pela levedura JP1 foi maior do que as da safbrew T-58, sendo a melhor produção ocorreu no mosto com 26°Brix, com reciclo de células.

Observa-se ainda que, no processo com reciclo de células a levedura JP1 produziu cerca de 24,6 °GL de etanol em 168 horas, o que indica que se houvesse uma maior redução no tempo de fermentação, em cerca de 3 dias teria em média um teor de

12°GL de etanol, o que mostra a otimização do processo. Estes resultados permitiram estimar o desempenho fermentativo da levedura JP1 ao longo das três fermentações, por meio da determinação do fator de rendimento ($Y_{p/s}$), eficiência (η), produtividade (Q_p) e consumo de glicose, cujos resultados encontram-se apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Parâmetros fermentativos referentes a levedura JP1

Características	Rendimento ($Y_{p/s}$) [g/g]	Eficiência (η) [%]	Produtividade (Q_p) [g/L.h ⁻¹]
1-Descontínuo	1,15	22,58	0,07
2-Descontínuo	4,72	92,37	0,08
3-Descontínuo Alimentado	12,3	24,07	0,17
Média	6,06	46,34	0,11

Estes resultados permitem observar que os valores do fator de rendimento, bem como da eficiência da fermentação alternaram ao longo das três fermentações, ao passo que a produtividade aumentou progressivamente ao longo do procedimento.

Desta forma, observa-se que a variação da produtividade foi superior quando comparada com a Safbrew T-58 (Tabela 2), o que se deve a redução do tempo de fermentação (Tabela 3) devido a adaptação da levedura às condições do processo. Com relação aos parâmetros rendimento e eficiência da fermentação nota-se que a levedura JP1 apresentou um desempenho superior ao da Safbrew T-58. Assim, verificou-se a conversão do açúcar em etanol conferindo um maior rendimento e eficiência da fermentação.

Desta forma, os valores obtidos para os parâmetros fermentativos avaliados demonstram que a levedura JP1 apresentou um desempenho fermentativo considerado superior nos quesitos rendimento, eficiência e produtividade, quando comparada com a Safbrew T-58.

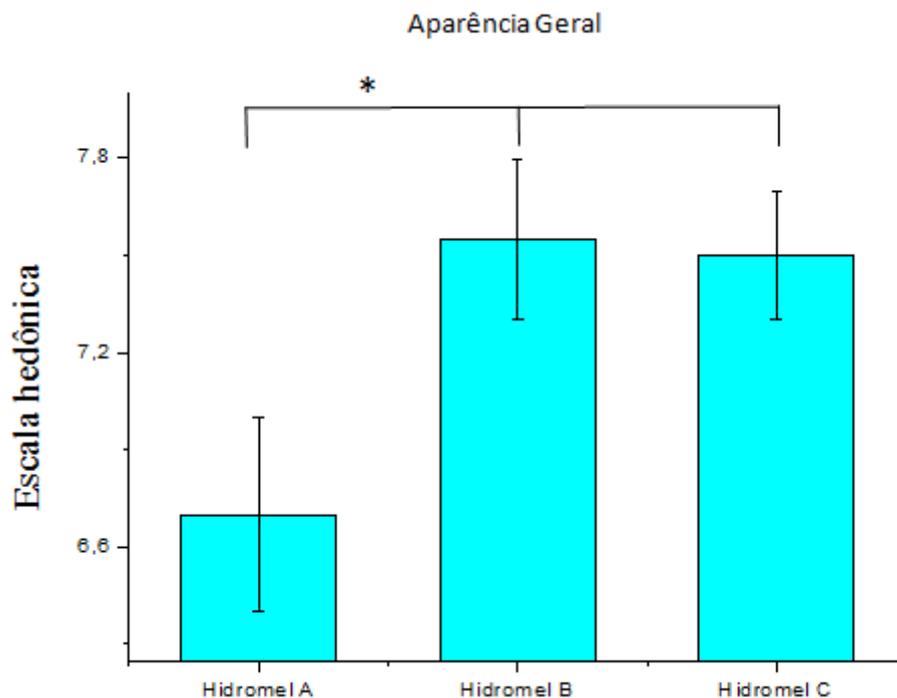
5.3- ANÁLISE SENSORIAL

Para análise sensorial foram utilizadas três amostras de Hidromel, as quais foram nomeadas como Hidromel A (levedura Safbrew T-58, com teor alcoólico de 14° GL), Hidromel B (levedura JP1, com teor alcoólico de 18,88° GL) e Hidromel C (levedura JP1 com reciclo de células, teor alcoólico de 24,6° GL). Os provadores tinham idade entre 18 e 53 anos, sendo 75% do sexo feminino e 25% do sexo masculino.

5.3.1- Aparência geral

Os resultados obtidos em relação a aparência geral pelos provadores para as bebidas com diferentes teores alcoólicos encontram-se na Figura 5.

Figura 5: Média e desvio padrão das notas da análise sensorial do atributo aparência geral para as três formulações de bebidas. * representa significância $p < 0,05$.



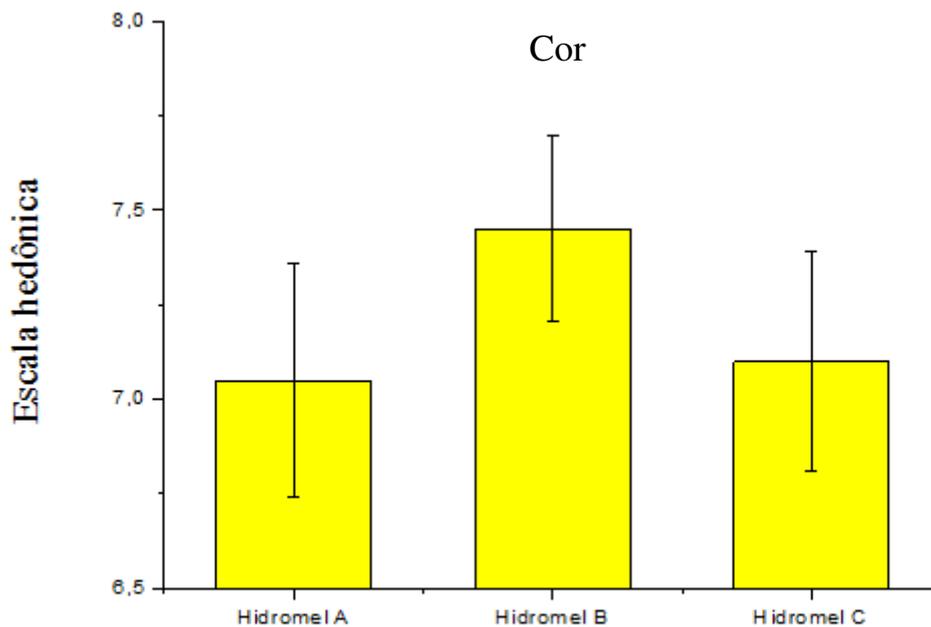
Por meio da escala hedônica, os provadores registraram o quanto gostaram ou desgostaram da aparência das bebidas. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as bebidas. Examinando-se as médias das notas da análise sensorial para aparência geral (Figura 9), pode-se observar que o grupo de provadores aprovou de uma maneira geral as bebidas Hidromel B e C para tal atributo, que receberam médias acima de 7, que corresponde ao quesito “Gostei Regularmente”. Já com relação a bebida formulada pela levedura Safbrew T-58 (Hidromel A), a aceitabilidade foi menor, com média acima de

6, que corresponde ao quesito “Gostei Ligeiramente”. A bebida Hidromel B apresentou melhor aceitabilidade com relação as demais bebidas.

5.3.2- Cor

Os resultados obtidos em relação a cor pelos provadores para as bebidas com diferentes teores alcoólicos (Hidromel A, Hidromel B e Hidromel C) encontram-se na Figura 6.

Figura 6: Média e desvio padrão das notas da análise sensorial do atributo cor para as três formulações de bebidas.

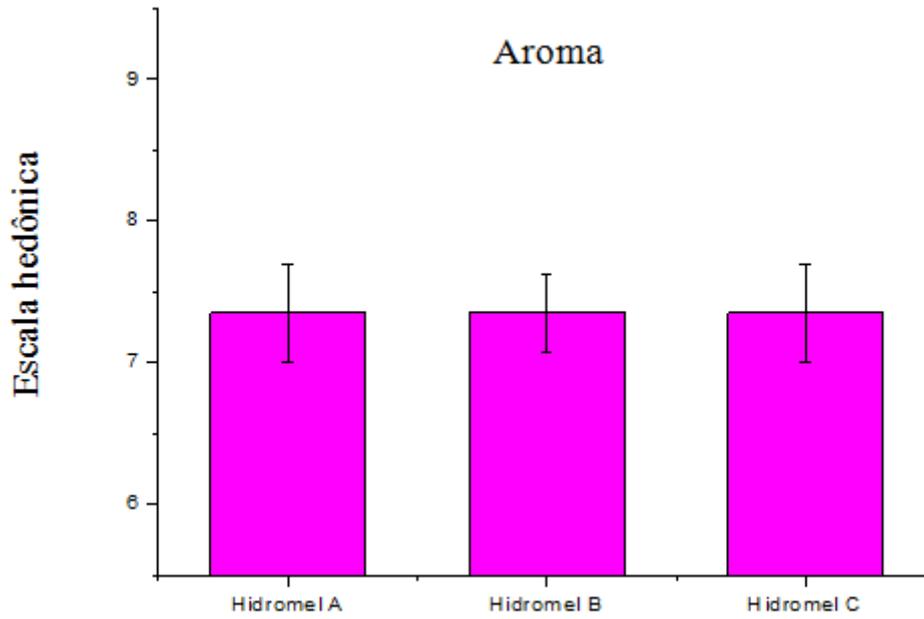


Dentre as bebidas, a formulação Hidromel B sobressaiu, apresentando maior preferência. Os valores representam a média das notas atribuídas pelos julgadores, sendo que, em média, todas as formulações obtiveram nota superior a 7, que representa “gostei regularmente” na ficha de avaliação, logo é possível concluir que todos os hidroméis tiveram aceitação por parte dos provadores.

5.3.3- Aroma

Os resultados obtidos em relação ao aroma pelos provadores para as bebidas com diferentes teores alcoólicos encontram-se na Figura 7.

Figura 7: Média e desvio padrão das notas da análise sensorial do atributo aroma para as três formulações de bebidas.

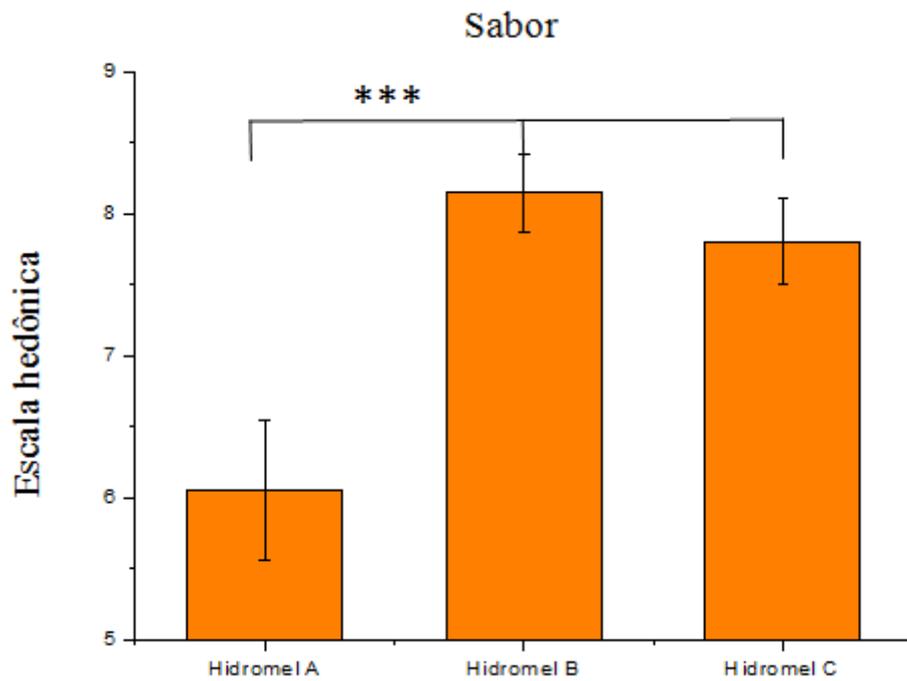


Examinando-se as médias das notas da análise sensorial para o aroma (Figura 4), pode-se observar que o grupo de provadores atribuiu mesma nota (acima de 7, que corresponde a “Gostei Regularmente”) para todas as bebidas formuladas, não havendo diferença com relação a preferência dos provadores entre as três bebidas.

5.3.4- Sabor

Os resultados obtidos em relação a preferência pelos provadores para as bebidas encontram-se na Figura 8, na qual o valor mais elevado da soma de ordens indica a maior preferência dos provadores pelo produto.

Figura 8: Média e desvio padrão das notas da análise sensorial do atributo sabor para as três formulações de bebidas. *** representa significância $p < 0,001$.

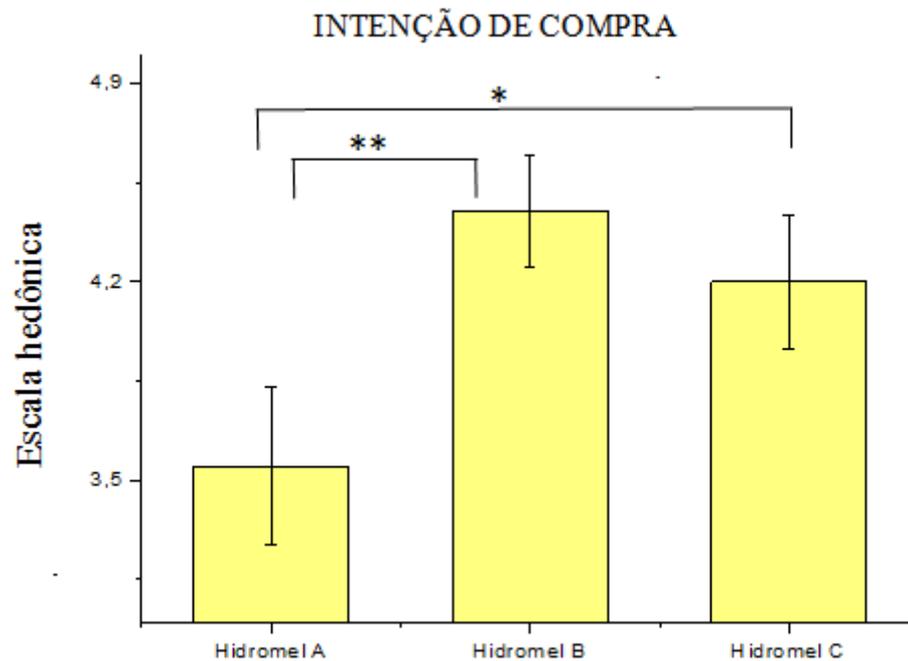


Para o sabor, houve diferença significativa ($p < 0,001$). O hidromel B diferiu estatisticamente dos demais, apresentando melhor preferência pelos provadores, que indica uma melhor aceitação. A menor aceitação da avaliação foi do hidromel A, que pode ser consequência da acidez e do gosto amargo notado pelos provadores no final da ficha de avaliação.

5.3.5- Intenção de Compra

Os resultados obtidos em relação a intenção de compra pelos provadores para as bebidas com diferentes teores alcoólicos encontram-se na Figura 9.

Figura 9: Média e desvio padrão das notas da análise sensorial do atributo intenção de compra para as três formulações de bebidas. * representa significância $p < 0,05$; ** representa significância $p < 0,005$.



Apesar das bebidas apresentarem diferenças significativas entre si, na Figura 6 observa-se que a amostra Hidromel B recebeu maior frequência de notas, ficando com média acima de 4 (provavelmente compraria). A amostra hidromel C também recebeu maior frequência de notas acima de 4, demonstrando assim que as amostras Hidromel B e Hidromel C tiveram uma boa intenção de compra. Já a amostra Hidromel A recebeu maior de notas 3 (Talvez comprasse, talvez não comprasse), sendo a menos preferida pelos julgadores.

De modo geral, apesar de introdutória, esta pesquisa mostra o potencial que um produto originário da Caatinga possui em gerar novos produtos para a indústria, explorando fontes naturais, de simples manuseio e com grande potencial, não só para a produção de uma bebida alcoólica, como também para produzir diversos outros tipos de produtos, que geram outras linhas de pesquisa.

6 CONCLUSÕES

- A levedura JP1 mostrou-se mais eficiente na fermentação para produção de Hidromel;
- A concentração inicial de glicose que apresentou o melhor fator de conversão de substrato em produto ($Y_{p/s}$ 12,3) foi o processo em descontínuo alimentado sob ação da levedura JP1;
- Os ensaios com reciclo de células obtiveram altos valores de eficiência, rendimento e produtividade da fermentação;
- A bebida Hidromel B apresentou maior preferência e maior índice de aceitabilidade que as demais, demonstrando que este produto apresenta potencial para ser comercializado;
- As amostras produzidas com a levedura JP1 tiveram boa aceitação sensorial obtendo avaliação acima de 7 (em escala hedônica de 09 pontos), para os atributos aparência geral, cor aroma e sabor e médias 4 para o atributo intenção de compra (em escala de 05 pontos).

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Utilizar meios de cultura suplementados;
- Testar diferentes parâmetros como pH, temperatura, agitação e °Brix;
- Como na literatura há poucos resultados do cultivo dessas leveduras realizados em fermentador através do processo descontínuo e descontínuo alimentado, sugere-se que novos estudos sejam realizados para que os parâmetros cinéticos aqui apresentados possam ser confrontados.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, B. X. **Avaliação físico-químico e microbiológica de méis não inspecionados comercializados no Estado do Rio de Janeiro**.56f. 2003. Monografia. Universidade Estácio de Sá, Rio de Janeiro, 2003.
- AB’SÁBER, Aziz. Os domínios de natureza no Brasil: potencialidades paisagísticas. São Paulo: Ateliê Editorial, 2003.
- AB’ SABER, A. N. O domínio morfoclimático semiárido das caatingas brasileiras. Universidade de São Paulo, Instituto de Geografia, São Paulo, **Geomorfologia: 43**. 1974.
- ALCOFORADO-FILHO, F.G. Caatinga: florística, manejo e sustentabilidade. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 49, 1998. Salvador, **Resumos...** Salvador: UFBA. SBB. 1998, p. 437-438. R1030.
- ALEXOPOULOS, C. J., MIMS, C.. W. E BLACKWELL, M. (1996) *Introductory Mycology*. 4ª ed. Jonh Wiley & Sons, INC, New York, pp.283-285.
- ALLEN, K.L.; MOLAN, P.C.; REID, G.M. A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.43, p.817-822, 1991.
- ALVES, D.M.G. *Fatores que afetam a produção de ácidos orgânicos bem como outros parâmetros da fermentação alcoólica*. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo. 1994, 128p. (Dissertação- Mestrado em Microbiologia).
- ANDRADE-LIMA, D. **Contribution to the study of the flora of Pernambuco, Brazil**. New York: NY. State University of New York, 1954, 131 f. Dissertation (Máster Science)- State University of New York, 1954.
- AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIMIDELL, W.; LIMA, U.A. **Biotechnologia na produção de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. 523p.
- BELTER, P. A., CUSSTER, E. L., HU, W. S.; **Bioseparations: downstream processing for biotechnologies**. United States of America: John Wiley & Sons, 1988. 368 p
- BERA, A; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Propriedades físico-químicas de amostras comerciais de mel com própolis do estado de São Paulo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n. 1, p. 49-52, 2007.
- BERRY, B. **The global mead market**: opportunities for Canadian mead exporters. Ottawa, Ontário; Agriculture and Agri-Food Canada, 2007. Disponível em: <http://ats-sea.agr.gc.ca/canada/4347_e.htm>. Acesso em: 10 de janeiro de 2015.
- BERTELLO, J. P. **Hidromiel**: De la miel, el vino. Maio, 2001. Disponível em: <http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/consumidor/01_Hidromiel.PDF>. Acesso em: 19 fev. 2015.
- BIALOSKORSKI NETO, S. **Cooperativas**: economia, crescimento, e estrutura de capital. 1998. (Doutorado em Economia Aplicada) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.
- BORÉM, L. A história da biotecnologia: a ciência que está surpreendendo até os mais otimistas. *Biotechnologia Ciência e Desenvolvimento*, v.34, p.10-12, 2005.

- BORTOLINI, F.; SANT'ANNA, E. S.; TORRES, R. C. Comportamento das fermentações alcoólica e acética de sucos de kiwi (*Actinidia deliciosa*); composição dos mostos e métodos de fermentação acética. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n.2, p. 236- 243, 2001.
- BORZANI, W.; AQUARONE, E.; LIMA, U.A. e SCHIMIDELL, W.; **Biotecnologia Industrial**; Volume 2; Editora Edgard Blucher LTDA, 2001; 522p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Decreto nº 2314, de 04 de setembro de 1997.Regulamenta a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas pela Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF: Secretaria de Vigilância Sanitária, 1997a. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php>>. Acesso em: 11 fev. 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cadeia produtiva de flores e mel**. Ministério da Agricultura e Abastecimento, Secretaria de Política Agrícola, Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura: Antônio Márcio Buainain e Mário Otávio Batalha (Coordenadores). Brasília: IICA MAPA/SPA, 140 p., 2007.
- BUAINAIN, A. M.; BATALHA, M. O. **Cadeia produtiva de produtos orgânicos**. Brasília (DF): Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2007. (Série Agronegócios).
- Caatinga. Disponível em: www.queimadasbahia.hpg.ig.com.br. Acesso em: 25 de março de 2015.
- CARDOSO, A.M. et al. Archaea: potencial biotecnológico: utilização e aplicação de arqueas na biotecnologia. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, v.30, p.71-77, 2003.
- CARDOSO, Maria das Graças; CAMPOS, Gustavo Azevedo et al. **Cachaça: Qualidade e Produção**.2007. Disponível em http://www.editora.ufla.br/BolExtensao/pdfBE/bol_07.pdf. Acessado em: 02 de abril. 2015.
- CARVALHO, J. C. M., SATO, S. (2001a). Fermentação Descontínua. In: Schmidell, Willibaldo et al. (Coord.). **Biotecnologia Industrial**: Engenharia Bioquímica. São Paulo: Edgar Blücher, p. 193-204. (Biotecnologia Industrial; v.2).
- CARVALHO, J. C. M., SATO, S. (2001b). Fermentação Descontínua Alimentada. In: Schmidell, Willibaldo et al. (Coord.). **Biotecnologia Industrial**: Engenharia Bioquímica. São Paulo: Edgar Blücher, p. 205-222. (Biotecnologia Industrial; v.2).
- CARVALHO, C.M.S. Diagnóstico Mercadológico consolidado Projeto APIS – Sergipe, Aracaju, SEBRAESE, 2005. 61p.
- CASELLAS, G. B. **Effect of low temperature fermentation and nitrogen content on wine yeast metabolism**. Tese (Doutorado) – Universitat Rovira i Virgili, Barcelona, Espanha, 2005.
- CECCATO-ANTONINI, S.R. Biotechnological implications of filamentation in *Saccharomyces cerevisiae*, **Biotechnology Letters**, v.30, p.1151-1161, 2008.
- CHAVES, José Benício. **Cachaça: Capixaba- Um pouco de História: Informações Técnicas Básicas para a Produção de Cachaça Artesanal de Qualidade**. 2006.
- COBERT, S.A. 2000. A Conserving compartments in pollination webs. *Conservation biology*, n 14. p. 1229-1231, 2000.
- COUTINHO FILHO, U. **Engenharia Bioquímica**. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2007. Apostila.

- CRANE, E. **O livro do mel**. São Paulo: Nobel, 1983.
- DUARTE, J. C.; LOURENÇO, V.; RIVEIRO, B. **Continuous culture of flocculent yeast for ethanol production**. Instituto Nacional de Engenharia, Tecnologia e Inovação, Biotechnology Department, Portugal, 2006.
- ESPINOZA, Leandro J.S. **Tecnologia de Produção de Cachaça: Princípios do Processo de Produção de Cachaça de Qualidade**. UFLA- MG.2006.4.
- FLORES, C. L.; RODRIGUEZ, C.; PETIT, T.; GANCEDO, C. Carbohydrate and energy-yielding metabolism in non-conventional yeasts. **FEMS Microbiol. Rev.**, Netherlands, v. 24, p. 507-29, 2000.
- FERMENTEC S/C LTDA. **Processo de Fabricação de álcool**. Piracicaba, SP, 1978. 108 p.
- FERNANDES, A. Fitogeografia do semiárido. In: SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, SBPC. Feira de Santana, *Anais da 4ª Reunião Especial da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência*. Feira de Santana: SBPC, 1996. p.215-219.
- 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.
- FITE, A.; TADESSE, A.; URGA, K.; SEYOUUM, E. Methanol, fusel oil and ethanol contents of some Ethiopian traditional alcoholic beverages. **Ethiopian Journal of Science**, v.14, p.19-27, 1991.
- FREITAS, B.M. A vida das abelhas. Craveiro & Craveiro - UFC, Fortaleza CE. 1999 (Livro em CDROM).
- FREITAS, Débora Gaspar Feitosa. **Nível tecnológico e competitividade da produção de mel de abelhas (*Apis mellifera*) no Ceará**. 101 f. (Dissertação de Mestrado em Economia Rural) - UFC/CCA/DEA, Fortaleza, 2003.
- FURTADO, T. A.; SCANDIFFIO, M. G. **Álcool no Brasil - Uma longa história**. Scientific American Brasil, p. 66-71, Outubro, 2006.
- GIBSON RB, LAWRENCE JS, LECLAIRE PRJ, CHRIS D, SMART P, SMART K (2007). Yeast responses to stresses associated with industrial brewery handling. **FEMS** 31:535-569.
- GIULIETTI, A. M. et al. (Coord.) Vegetação: áreas e ações prioritárias para a conservação da Caatinga. In: SILVA, J. M. C. *et al.* (Coord.). In: *Biodiversidade da caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação*. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente: Universidade Federal de Pernambuco, 2004.p. 113-131.
- GONZAGA, S. R. Cera de abelhas. In: Anais de XII Congresso Brasileiro de Apicultura: feira nacional apícola.Salvador Bahia. 1998.
- GUERRA, C. C.; BARNABÉ, D. Vinho. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de bebidas, matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, Legislação, Mercado**. São Paulo: Edgard Blücher, 2005, p. 423-451.
- HASHIZUME, T. Fundamentos de tecnologia do vinho. In: AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W. (Ed.). **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: E. Blücher, v. 5, 1983. 243p.

- HENSING, M. C. M. Physiological and technological aspects of large-scale heterologous-protein production with yeasts. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.67, p.261-279, 1995.
- HORII, J. M. E OETTRER, A. M. (1998) Caracterização de levedura e seu uso na alimentação. **Boletim SBCTA** 32 (1): 89-98.
- IBGE. 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: 15 de janeiro de 2015.
- ILHA, E. C.; BERTOLDI, F. C.; REIS, V. D. A.; SANT'ANNA, E. Rendimento e Eficiência da Fermentação Alcoólica na Produção de Hidromel. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, Embrapa, v. 84, 2008.
- IMPE VAN, J.F., NICOLAY, B.M., VANROLLEGHM, P.A., SPRIET, J.A., MOOR, B.D., VANDEWALLE, J. (1994). Optimal control of the penicillin G fed-batch fermentation: an analysis of the model of Heijnen et al.. **Optimal Control Appl. & Methods**, 15, 13–34.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Censo Demográfico 2010**. Rio de Janeiro: IBGE, 2011.
- INSTITUTO do Milênio do Semiárido (INSEAR). *Biodiversidade, bioprospecção e conservação de recursos naturais*. Disponível em: <<http://www.imsear.org.br/default.asp?id=1&mnu=1>>. Acesso em: 20 março 2015.
- IURLINA, M. O.; FRITZ, R. Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. **Internationa Journal of Food Microbiology**, v. 105, p. 297-304, 2005.
- JONES, R.P.; PAMMENT, N.; GREENFIELD, P.F. *Alcohol fermentation by yeasts: The effect of environmental and other variables*. Process Biochemistry, London, 1981, v.16, p-42-49.
- KOSARIC, N. J., REED, G., PÜHLER, A. e STADLER, P. Products Etanol – Potential source of energy and chemical products. In: Rehm, H. of primary metabolism – Botechnology. 2 ed., Vch, p.121-203, (1996).
- LIMA, J. L. S. **Reconhecimento de trinta espécies arbóreas e arbustivas da caatinga, por meio da morfologia da casca**. Recife- PE, 1982. 140 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal Rural de Pernambuco, 1982.
- LIMA, W. J. N.; Produção de proteínas recombinantes utilizando *Escherichia coli* em cultivos em alta densidade celular. **Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, 2004**.
- LIMA, Urgel de Almeida, et.al. **Biotecnologia Industrial, Processos Fermentativos e Enzimáticos**, volume 3, 1º ed.Editoria Edgard Blücher, São Paulo, 2001.
- LIMA, U. A., BASSO, L. C. e AMORIM, H. V. Fadiga. In: **Biotecnologia industrial: processos fermentativos e enzimáticos**. Produção de etanol. São Paulo-SP. v.3, p. 1-43 (2001).
- LINO, T.A.L.R. **Alcoolismo** - da causa à doença. [S.l]: [s.n], 2006. 21p. Trabalho de Licenciatura. Disponível em:

<http://www.psicologia.com.pt/artigos/ver_artigo_licenciatura.php?codigo=TL0054>. Acesso em: 11 março. 2015.

- LIRIO, F. C. **Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de méis florais irradiados**. 2010. 154 f. Dissertação – Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Rio de Janeiro (RJ), 2010.
- LUCENA, B. T. L. (2004) Análise de polimorfismos cromossômicos em linhagens de leveduras de fermentação alcoólica. 82f Dissertação (Mestrado em Genética), Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- MALVEZZI, Roberto. *Semi-Árido: uma visão holística*. Brasília: confea, 2007.
- MATTIETTO, R.A.; LIMA, F.; VENTURIERI, G.C.; ARAÚJO, A. A. de. **Tecnologia para obtenção artesanal de hidromel do tipo doce**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2006. 5 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Comunicado Técnico, 170).
- McNEIL, B., HARVEY, L. M. (1990). *Fermentation – a practical approach*. 1st ed. **IRL PRESS at Oxford University Press**.
- Ministério da Integração Nacional. **Nova delimitação do semiárido brasileiro**. Brasília: MIN/Secretaria de Políticas de Desenvolvimento Regional, 2005.
- Ministério do Meio Ambiente. **Programa de revitalização da bacia hidrográfica do rio São Francisco**. Brasília, MMA. 2003. 134p.
- MOREIRA, R. F. A; DE MARIA, C.A. B. Glicídios no mel. **Química Nova**, v.24, n. 4, p. 516-525, 2001.
- NAVRÁTIL, M.; STURDÍK, E.; GEMEINER, P. Batch and continuous mead production with pectate immobilised, ethanol-tolerant yeast. **Biotechnology Letters**, v.23, p.977-982, 2001.
- OLIVEIRA, L. P. Seleção e aproveitamento Biotecnológico de frutos encontrados na Amazônia para elaboração de bebida alcoólica fermentada utilizando levedura imobilizada. Tese de doutorado UFAM Manaus-amazonas (2006).
- PACHECO, F.T. (2010), **Fermentação alcoólica com leveduras de características floculantes em reator tipo torre com escoamento ascendente**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Brasil.
- PAES, J.B. et al. Resistência natural de nove madeiras do semi-árido brasileiro a cupins subterrâneos, em ensaio de laboratório. *Revista Cerne*, v.9, n.1, p.36-47, 2003.
- PALKOVÁ, Z. & VÁCHOVÁ, L. Life within a community: benefit to yeast long-term survival, **FEMS Microbiology Reviews**, v.30, p.806-824, 2006.
- PATARO, C.; SANTOS, A.; CORREA, S.R.; MORAIS, P.B.; LINARDI, V.R.; ROSA, C.A. *Physiological characterization of yeasts isolated from artisanal fermentations in na cachaça distillery*. *Rev. Microbiol.*, v.29, p. 69-79, 1998.
- PEREIRA, A.P., DIAS, T., ANDRADE, J., RAMALHOSA, E., Estevinho, L.M., 2009. Mead production: Selection and characterization assays of *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Food and Chemical Toxicology*, **47**, 2057-2063.

- PEREIRA, A. P. R. **Caracterização de mel com vista à produção de hidromel**. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) – Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, 2008.
- PHAFF, H. J. (1990) Isolation of yeast from natural source. In: Isolation of biotechnological organisms from nature. Labeda (ed), US Mc-Graw-Hill INC., pp. 53-59.
- PIANA, M. L.; PERSANO, L. O.; BENTABOL, A.; BRUNEAU, E.; BOGDANOV, S.; GUYOT, C. D. Sensory analysis applied to honey: state of the art. **Apidologie**, Avignon, v. 35, p. S26-S37, 2004.
- PIŠKUR, J.; ROZPEDOWSKA, E.; POLAKOVA, S.; MERICO, A. & COMPAGNO, C. How did *Saccharomyces* evolve to become a good brewer?, **Trends in Genetics**, v.22, n.4, p.183-186, 2006.
- PRADO, D. E. As Caatingas da América do Sul. In.: LEAL, I. R. & TABARELLI, M. (Eds.) **Ecologia e Conservação da Caatinga**. Editora Universitária: UFPE. 2003.
- QUEINNEC, I., DAHHOU, B. (1994). Optimization and control of a fed-batch fermentation process. **Optimal Control Appl. & Methods.**, 15, 175–191.
- RAMALHOSA, E.; GOMES, T.; PEREIRA, A. P.; DIAS, T.; ESTEVINHO, L. M. Mead production: tradition versus modernity. **Advances in Food and Nutrition Research**. V. 63, p. 102-116, 2011.
- RESENDE, R. VIEIRA, A. Mel na merenda escolar aumenta consumo interno. **Sebrae Agronegócios**, n.3, p.38-39, 2006.
- RIBEIRO, E.J, **Apresentação Dia Nacional do profissional da Química e II Escola da Química**, 2006.
- RIBEIRO. F.A.M. **Fermentação Alcoólica**. ModuloII, Processamento na industria sucroalcooleira. Apostila. Uberaba:FAZU. 2010.
- RODRIGUES FILHO, André; Oliveira, Reinaldo Numes de. **Tecnologia de Produção de cana-de-açúcar e cachaça de Minas de Qualidade**. EMATER. Belo Horizonte.1999.
- SANTANA, Ana Cristina Almeida. *Caatinga: esquecimento e riqueza*. Disponível em: www.planetaverde.org. Acesso em: 22 de março de 2015.
- SCHMIDELL, W., FACCIOTTI, M. C. R. Biorreatores e Processos Fermentativos. In: Schmidell, Willibaldo et al. (Coord.). **Biotechnologia Industrial: Engenharia Bioquímica**. São Paulo: Edgar Blücher, p. 179-192. (Biotechnologia Industrial; v.2), 2001.
- SCHRAMM, K. **The compleat meadmaker: home production of honey wine from your first batch to award-winning fruit and herb variations**. United States: Brewers publications, 2003.
- SEBRAE Nacional, gestão orientada para resultados – A experiência da rede apís, 2005.
- SILVA, Roberto Marinho Alves da. Entre dois Paradigmas: Combate a seca e convivência com o Semi-Árido. *Sociedade e Estado*, Brasília, v. 18, n. 1/2, p. 361-385, jan./dez. 2003.
- 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. M. C. T., M.; FONSECA, M. T. *Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação*. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente: Universidade Federal de Pernambuco, 2004.
- SILVA, I.F. da. **Biologia de *U. acawoios* em *Clitoria fairchildiana* e em variedades de *Phaseolus vulgaris***: Carioca, Jalo e Rubi. 2006. 27f. Monografia (Graduação em Engenharia Florestal) - Instituto de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2006.
- SILVA, R.A.; MAIA, G.A.; SOUSA, P.H.M.; COSTA, J.M.C. (2006) Composição e Propriedades Terapêuticas do Mel de Abelha. **Alim. Nutr.**, Araraquara. v.17, n.1, p.113-120, jan./mar. 2006.
- SOUZA, D.C. Apicultura orgânica: *alternativa para área de exploração da região do semiárido\ nordestino*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 14., 2002, Campo Grande, MS. Anais. Campo Grande: CBA: UFMS: FAAMS, 2002. p. 133- 135.
- SROKA, P.; TUSZNISKI, T. Changes in organic acid contents durin mead wort fermentation. **Food Chemistry**, n. 104, p. 1250-1257, 2007.
- STUPIELLO, J.P.; HORII, J. *Condução da fermentação alcoólica*. Saccharum, v.4, n. 17, p. 43-46, 1981.
- TESSARO, D.; LARSEN, A. C.; DALLAGO, R. C.; DAMASCENO, S. G.; SENE, L.; COELHO, S. R. M. Avaliação das fermentações alcoólica e acética para produção de vinagre a partir de suco de laranja. **Acta Scientiarum Technology**, v. 32, n. 2, p. 201-205, 2010.
- TERAMOTO, Y.; SATO, R.; UEDA, S. Characteristics of fermentation yeast isolated from traditional Ethiopian honey wine, *ogol*. **African Journal of Biotechnology**, v.4, n.2, p.160-163, 2005.
- TUSE, D. Single cell protein: current status and future prospects. **Food Science**, v.19, n.4, p.273-325, 1994.
- USAID. **Análise da indústria do mel**: inserção de micro e pequenas empresas no mercado internacional. DAI/ BRASIL, v. 2, 42 p., 2006.
- VARGAS, P.; GULLING, R. **Making Wild Wines and Meads**: 125 unusual recipes using herbs, fruits, flowers and more. United States, Storey Publishing, 1999.
- VERAN, E. H. **Santa Catarina no Mercosul e no mercado internacional**: Aplicação das medidas sanitárias da OMC. Dissertação (Mestrado em Ciências)–Universidade do Sul de Santa Catarina, 2005.
- VERSTREPEN, K. J.; DERDELINCKX, G & VERACHTERT, H. Yeast flocculation: what brewers should know, **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 61, p.197-205, 2003.
- VOET, D.; VOET, J. G.; PRATT, C.W. **Fundamentos de Bioquímica**. 1 ed. Porto Alegre: Artmed, 2000.
- WARD, OWEN. P. *Bioteconología de La fermentación: principios, procesos y productos*. Zaragoza (Espanã). Ed.Acribia, (S. A), p. 155, (1991).
- WATSON, K. *Temperature Relations* In: *The Yeasts*., vol.2, c.3, p.41-71. Edited by ROSE, A. H. and HARRISON, J.S. 2nd edition. Academic Press, 1987.

9 ANEXOS

Anexo I- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Senhor (a),

Esta pesquisa é sobre análise cinética e estudo dos parâmetros fermentativos para otimização da produção de hidromel e está sendo desenvolvida por Analu Freitas de Souza Brito, aluna do Curso Superior de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos da Universidade Federal de Campina Grande, sob a orientação do Prof^o. Dr. Jean César Farias de Queiroz e Amanda Kelle Fernandes de Abreu.

O objetivo do estudo é desenvolver uma bebida produzida a partir do mel diluído como forma de agregar valor ao mel produzido no estado da Paraíba.

A finalidade deste trabalho é contribuir para a comunidade científica, no que se refere ao desenvolvimento e aceitação de produtos elaborados a partir do mel de abelha buscando agregar cada vez mais valor a essa matéria prima.

Solicitamos sua participação nos nossos testes sensoriais, através da degustação das amostras em teste, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área e publicar em revista científica. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo. Informamos que essa pesquisa não oferece riscos para a sua saúde.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador(a). Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano. Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido (a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

Assinatura do Participante da Pesquisa
ou Responsável Legal

Assinatura da Testemunha

Contato com o Pesquisador (a) Responsável:

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para a pesquisadora.

Analú Freitas de Souza Brito

Jean César Farias de Queiroz

Amanda Kelle Fernandes de Abreu.

Endereço: Rua Luiz Grande, s/n, Bairro: Frei Damião. Cep: 58540-000. Sumé- PB.

Telefone: (83) 3353-1850

Contato do Comitê de Ética e Pesquisa:

Comitê de Ética em Pesquisa do IFPB - Avenida João da Mata, 256, Jaguaribe, João Pessoa/PB. CEP: 58015 - 020

Telefone: (83) 9184 - 4721

Email: eticaempesquisa@ifpb.edu.br

Atenciosamente,

Assinatura do Pesquisador Responsável

Anexo II- Ficha de avaliação

Nome: _____ Data: ____/____/____

Gênero: () M () F E-mail: _____

Idade: _____ Telefone: _____ Escolaridade: _____

Por favor, avalie cada amostra de Hidromel utilizando a escala abaixo para descrever o quanto voc
gostou ou desgostou do produto com relação aos atributos sensoriais listados a seguir. Por último,
avalie as amostras quanto a sua **INTENÇÃO DE COMPRA**.

- 1- Desgostei muitíssimo
- 2- Desgostei muito
- 3- Desgostei regularmente
- 4- Desgostei ligeiramente
- 5- Indiferente
- 6- Gostei ligeiramente
- 7- Gostei regularmente
- 8- Gostei muito
- 9- Gostei muitíssimo

Código da amostra: _____ Código da amostra: _____

ATRIBUTO	
Aparência Geral	
Cor	
Aroma	
Sabor	

ATRIBUTO	
Aparência Geral	
Cor	
Aroma	
Sabor	

Código da amostra: _____

ATRIBUTO	
Aparência Geral	
Cor	
Aroma	
Sabor	

Você compraria este produto?

- 5- Certamente compraria
- 4- Provavelmente compraria
- 3- Talvez comprasse talvez não comprasse
- 2- Provavelmente não compraria
- 1- Certamente não compraria

AMOSTRA (CÓDIGO)	INTENÇÃO DE COMPRA

Comentários: _____