



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA



EDINARA LACERDA QUEIROZ

**IMOBILIZAÇÃO CELULAR EM GEL DE ALGINATO DE
CÁLCIO E FIBRA DE JACA (*Artocarpus integrifolia* L.)
E ESTUDO DOS PARÂMETROS FERMENTATIVOS E
FÍSICO-QUÍMICOS DA PRODUÇÃO AGUARDENTE DE
HIDROMEL**

Feira de Santana, BA

2025

Ficha Catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteadó - UEFS

Queiroz, Edinara Lacerda

Q43i Imobilização celular em gel de alginato de cálcio e fibra de jaca (Artocarpus integrifolia L) e estudos dos parâmetros fermentativos e físico-químicos da produção aguardente de hidromel / Edinara Lacerda Queiroz. – 2025.

156 f.: il.

Orientador: Ernesto Acosta Martínez

Coorientadora: Sílvia Maria Almeida de Souza

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Feira de Santana, 2025.

1.Apicultura. 2.Mel. 3.Hidromel. 4.Jaca. 5.Saccharomyces bayanus. 6.Bebidas fermentadas. 7.Aguardente. I. Martinez, Ernesto Acosta, orient. II. Souza, Sílvia Maria Almeida de, coorient. III. Universidade Estadual de Feira de Santana. IV. Título.

CDU 638.167

EDINARA LACERDA QUEIROZ

**IMOBILIZAÇÃO CELULAR EM GEL DE ALGINATO DE
CÁLCIO E FIBRA DE JACA (*Artocarpus integrifolia* L)
E ESTUDO DOS PARÂMETROS FERMENTATIVOS E
FÍSICO-QUÍMICOS DA PRODUÇÃO AGUARDENTE DE
HIDROMEL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, da
Universidade Estadual de Feira de Santana como requisito parcial para
obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Ernesto Acosta Martínez.

Coorientadora: Profa. Dra. Sílvia Maria Almeida de Souza.

Feira de Santana, BA

2025

EDINARA LACERDA QUEIROZ

“Imobilização celular em gel de alginato de cálcio e fibra de jaca (*Artocarpus integrifolia* L.) e estudo dos parâmetros fermentativos e físico-químicos da produção aguardente de hidromel”

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana, área de concentração em Biotecnologia com ênfase em Recursos Naturais da Região Nordeste, como requisito para obtenção do grau de doutor, tendo sido aprovada pelos membros signatários abaixo.

Feira de Santana, Bahia, 29 de JULHO de 2025.

Documento assinado digitalmente
 **ERNESTO ACOSTA MARTINEZ**
Data: 31/07/2025 20:05:36-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Orientador e presidente da Banca: Prof. Dr. **Ernesto Acosta Martinez**
UEFS – Universidade Estadual de Feira de Santana

Documento assinado digitalmente
 **NADABE DOS SANTOS REIS**
Data: 31/07/2025 17:49:13-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membro: Prof. Dr. **Nadabe dos Santos Reis**
UFSB – Universidade Federal do Sul da Bahia

Documento assinado digitalmente
 **MARIA EUGENIA DE OLIVEIRA MAMEDE**
Data: 03/08/2025 18:12:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membra: Prof.^a Dra. **Maria Eugênia de Oliveira Mamede**
UFBA – Universidade Federal da Bahia

Documento assinado digitalmente
 **MIRIANE MOREIRA FERNANDES SANTOS**
Data: 03/08/2025 19:34:31-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membra: Prof.^a Dra. **Miriane Moreira Fernandes Santos**
UEFS – Universidade Estadual de Feira de Santana

Documento assinado digitalmente
 **GIOVANI BRANDAO MAFRA DE CARVALHO**
Data: 06/08/2025 16:36:44-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membro: Prof. Dr. **Giovani Brandão Mafra de Carvalho**
UEFS – Universidade Estadual de Feira de Santana

À minha família, que é meu alicerce e fonte de força e coragem, eu dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me sustentou para que eu chegasse até aqui. À minha família, que durante todos esses anos foram a rede de apoio para que a realização do doutorado fosse possível.

Aos meus pais, Celivalda e Edvaldo, que desde a infância me ofereceram amor, acolhimento e me mostraram que a educação e persistência em busca dos meus sonhos poderiam transformar a minha vida.

Felipe, muito mais que um esposo, meu melhor amigo e incentivador. Obrigada por estar ao meu lado em todos os meus projetos, que eu sei que são nossos.

A minha filha Beatriz, que chegou durante esta etapa e com todos os desafios para conciliar a maternidade e a vida acadêmica conseguiu me fazer enxergar que como mãe, mulher e profissional, eu sou capaz de tudo.

A minha irmã Eduarda, que desde criança é o meu ombro amigo e apoio em todos os momentos, sempre torcendo pelo meu sucesso.

Aos meus sogros, Jaciene e Roberto, que me acolheram como filha e durante minha trajetória acadêmica sempre se fizeram presentes e dispostos a ajudar. A minha avó do coração, Luciene, sempre solícita e fazendo o possível (e o impossível) pela minha felicidade e para que eu alcance meus objetivos.

Ao Professor Ernesto Martinez, que é muito mais que um orientador, um verdadeiro pai, que me adotou e ajudou a formar a profissional que sou hoje. Um ser humano ímpar, competente, íntegro, que cumpre com maestria o seu papel como docente e é uma fonte de inspiração. Gratidão, professor!

A professora Sílvia Almeida, que desde o início da graduação abriu as portas da pesquisa para mim, me deu oportunidades que foram essenciais na minha vida acadêmica e me direcionou em busca dos meus sonhos. Pró, jamais esquecerei dos nossos momentos de muita conversa e risadas sem fim!

A Tamires Bastos, minha amiga desde a graduação. Em mais de uma década dividimos inúmeros momentos que marcaram nossas vidas, sejam eles na pesquisa ou na vida pessoal. Tami, com você aprendi a ser forte, persistente e a olhar o mundo com positividade até nos dias mais difíceis. Obrigada pela sua amizade.

Aos amigos que fiz durante essa jornada, em especial Anne, Geiza e Kayque, gratidão por dividirem conhecimento e tornarem a busca por essa conquista um caminho mais feliz.

Aos Professores Abraão Peixoto (UEFS), José Ailton Conceição (UEFS) e Marcus Fortes (UNICAMP) por toda disponibilidade e auxílio durante a realização de alguns dos experimentos da pesquisa.

Ao Laboratório de Fermentação (LABOTEC 2 – UEFS) que foi a minha segunda casa durante os anos de pesquisa. Aos Servidores e Técnicos da UEFS: Luiz (Técnico do LAFIQUI), Martha Carvalho (Técnica do Laboratório de Processamento de Alimentos), Antônio Cardoso e Edinelson (Seguranças do Labotec), que sempre foram um apoio no laboratório e tornaram os incontáveis dias de trabalho mais leves.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia - FAPESB (BOL0730/2020) ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia (PPGBiotec-UEFS) e CAPES por viabilizarem a realização deste projeto. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Confia ao Senhor os teus planos e eles serão bem-sucedidos.
Provérbios 16:3, A Bíblia Sagrada.

RESUMO

A Bahia é um dos principais estados produtores de mel do país e o Nordeste uma das regiões com maior cultivo de jaca, uma fruta de alto valor nutricional e ainda pouco aproveitada industrialmente. O hidromel é o produto obtido pela fermentação do mosto de mel, suplementado com sais minerais, frutas, ervas, especiarias ou grãos, e pode ser submetido ao processo de destilação para obter aguardente. A aguardente é uma bebida destilada com grande consumo no Brasil, e sua maior produção destina-se ao mercado interno. Diante disso, o presente trabalho tem como objetivo desenvolver uma tecnologia para obtenção de aguardente a partir do hidromel produzido pela fermentação de mosto suplementado com polpa de jaca hidrolisada e extrato de farelo de arroz, utilizando a levedura *Saccharomyces bayanus* Red Star Premier Blanc livre em suspensão e imobilizada em suportes de alginato de cálcio e fibra de jaca. Foram avaliados os efeitos dos suportes e de diferentes concentrações iniciais de sólidos solúveis do mosto sobre o crescimento celular, produtividade em etanol, rendimento e eficiência na fermentação do hidromel. Os ensaios de imobilização foram conduzidos segundo um planejamento fatorial 2^2 com análise estatística dos resultados no Statistica 7.0. A formulação otimizada foi selecionada para a produção da aguardente, a qual foi envelhecida, caracterizada físico-quimicamente. As matérias-primas apresentam características adequadas para seu uso na produção de hidromel. Nas primeiras 72 h de fermentação do mosto com *S. bayanus* imobilizada em alginato e fibra de jaca foram verificados acentuado crescimento celular (3,43 e 3,76 g/L), consumo de substrato ($Y_{p/s}$, 0,462 e 0,372 g/g), produção de etanol, produtividade volumétrica (Q_p , 1,047 e 1,361 g/L.h) e eficiência (η , 90,34 e 73,51%), respectivamente. A aguardente obtida apresentou teor alcoólico de 40° GL e após o envelhecimento demonstrou melhoria de atributos sensoriais. Os teores de acidez volátil (58,00 mg/100mL), metanol (152,00 mg/100mL) e HMF (0,07 g/L) avaliados estão dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira. Diante dos resultados obtidos, uma patente do produto e processo desenvolvidos foi depositada. O aproveitamento sustentável da jaca, com uso da polpa como suplemento e fibra como suporte, para produção de aguardente contribui para o desenvolvimento de uma tecnologia simples e ambientalmente atrativa para o processamento de uma bebida de alto valor agregado.

PALAVRAS-CHAVE: Mel; Jaca; *Saccharomyces bayanus*; Imobilização; Hidromel; Aguardente.

ABSTRACT

Bahia is one of the leading honey-producing states in Brazil, and the Northeast region is among the areas with the highest cultivation of jackfruit, a fruit with high nutritional value that remains underutilized industrially. Mead is the product obtained from the fermentation of honey must, supplemented with mineral salts, fruits, herbs, spices, or grains, and may be subjected to distillation to produce a spirit. This spirit is a distilled beverage widely consumed in Brazil, with most of its production intended for the domestic market. Accordingly, the present study aims to develop a technology for obtaining a distilled spirit from mead produced by fermenting honey must supplemented with hydrolyzed jackfruit pulp and rice bran extract, using *Saccharomyces bayanus* Red Star Premier Blanc yeast, both free in suspension and immobilized on calcium alginate and jackfruit fiber supports. The effects of the supports and different initial concentrations of soluble solids in the must were evaluated regarding cell growth, ethanol productivity, yield, and fermentation efficiency. Immobilization experiments were conducted following a 2² factorial design with statistical analysis performed using Statistica 7.0. The optimized formulation was selected for spirit production, which was subsequently aged and physical-chemically characterized. The raw materials demonstrated suitable characteristics for use in mead production. During the first 72 hours of must fermentation with *S. bayanus* immobilized in alginate and jackfruit fiber, significant cell growth (3.43 and 3.76 g/L), substrate consumption ($Y_{p/s}$, 0.462 and 0.372 g/g), ethanol production, volumetric productivity (Q_p , 1.047 and 1.361 g/L·h), and efficiency (η , 90.34 and 73.51%) were observed, respectively. The resulting spirit exhibited an alcohol content of 40° GL and, after aging, showed improved sensory attributes. The levels of volatile acidity (58.00 mg/100 mL), methanol (152.00 mg/100 mL), and HMF (0.07 g/L) were within the limits established by Brazilian legislation. Based on the results obtained, a patent for the developed product and process was filed. The sustainable use of jackfruit employing its pulp as a supplement and fiber as a support for spirit production contributes to the development of a simple and environmentally attractive technology for processing a high-value beverage.

KEYWORDS: Honey; Jackfruit; *Saccharomyces bayanus*; Immobilization; Mead; Brandy.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVOS.....	13
2.1. Objetivo geral	13
2.2. Objetivos específicos	13
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	14
3.1. APICULTURA NO BRASIL	14
3.2. MEL: DEFINIÇÃO, ORIGEM, CLASSIFICAÇÃO	15
3.2.1. Composição e propriedades físico-químicas	16
3.3. AGUARDENTE DE MEL	18
3.3.1. Processamento do hidromel	20
3.3.2. Suplementação e processo fermentativo	22
3.3.3. Processamento de Aguardente	25
3.4. JACA	27
3.4.1. Composição físico-química e valor nutricional	27
3.4.2. Aproveitamento do Fruto	29
3.4.3. Subprodutos da Jaca	31
3.5. IMOBILIZAÇÃO CELULAR	33
3.5.1. Condução e vantagens de processos fermentativos utilizando células imobilizadas	33
3.5.2. Técnicas e suportes para imobilização	34
3.5.3. Imobilização por Aprisionamento em matriz porosa	35
3.5.4. Imobilização Celular em Superfície	37
3.6. Otimização do processo fermentativo para produção de hidromel:Uma revisão.	37
3.7. Processo de obtenção de aguardente mel utilizando polpa de jaca hidrolisada como suplemento, levedura imobilizada em fibra de jaca e produto obtido pelo mesmo.	37
4. MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1. MATÉRIAS-PRIMAS	37
4.1.1. Jaca: coleta, seleção, obtenção da polpa e fibra	38
4.1.2. Enzimas	39
4.1.3. Mel	39
4.1.4. Levedura	39
4.1.5. Extrato de farelo de arroz	39
4.2. ANÁLISES DE CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS	40
4.2.1. pH	40

4.2.2.	Acidez Titulável	40
4.2.3.	Cinzas	40
4.2.4.	Teor de sólidos solúveis	40
4.2.5.	Compostos fenólicos totais	41
4.2.6.	Teor de nitrogênio assimilável	41
4.2.7.	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	41
4.3.	HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA POLPA DE JACA	41
4.3.1.	Delineamento estatístico no processo de hidrólise	42
4.3.2.	Análise de viscosidade da polpa	43
4.4.	PRODUÇÃO DE HIDROMEL	43
4.4.1.	Preparo do inóculo e propagação	43
4.4.2.	Imobilização celular em alginato de cálcio	43
4.4.3.	Imobilização celular em fibra de jaca	45
4.4.4.	Preparo do mosto suplementado	46
4.5.	ACOMPANHAMENTO DAS FERMENTAÇÕES	46
4.5.1.	Concentração celular nos suportes	47
4.5.2.	Avaliação dos parâmetros fermentativos	47
4.6.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	48
4.7.	PRODUÇÃO EM ESCALA PILOTO	49
4.8.	DESTILAÇÃO	49
4.9.	ENVELHECIMENTO	50
4.10.	CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC)	51
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
5.1.	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS MATÉRIAS-PRIMAS	51
5.2.	HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA POLPA DE JACA	56
5.3.	FERMENTAÇÃO DE HIDROMEL COM IMOBILIZAÇÃO DE LEVEDURA <i>Saccharomyces bayanus</i> EM GEL DE ALGINATO DE CÁLCIO	59
5.4.	FERMENTAÇÃO DE HIDROMEL COM IMOBILIZAÇÃO DE LEVEDURA <i>Saccharomyces bayanus</i> EM SUPORTE DE FIBRA DE JACA	69
5.5.	PRODUÇÃO DA AGUARDENTE	81
6.	CONCLUSÃO.....	88
	REFERÊNCIAS.....	90
	APÊNDICE A - OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO FERMENTATIVO PARA PRODUÇÃO DE HIDROMEL: UMA REVISÃO.....	104
	APÊNDICE B - PROCESSO DE OBTENÇÃO DE AGUARDENTE MEL UTILIZANDO POLPA DE JACA HIDROLISADA COMO SUPLEMENTO,	

LEVEDURA IMOBILIZADA EM FIBRA DE JACA E PRODUTO OBTIDO PELO MESMO	139
--	------------

1. INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta características especiais de flora e clima que, aliados à presença da abelha africanizada, lhe conferem um excelente potencial para a atividade apícola, que possui grande potencial de crescimento (Maliszewski, 2019). A apicultura é uma das poucas atividades agropecuárias que atende os três requisitos da sustentabilidade: o econômico, o social e o ecológico. Sendo assim, fornece renda para o apicultor, ocupa mão-de-obra familiar e contribui para a preservação da flora nativa, pois é dela que são extraídos o néctar e o pólen, componentes essenciais à vida das colmeias (Paula Neto; Almeida Neto, 2006) e capazes de causar impactos positivos, tanto sociais quanto econômicos, além de contribuir para a manutenção e preservação dos ecossistemas existentes (Araújo *et al.*, 2020a).

Segundo a legislação brasileira, o hidromel pode ser definido como uma bebida com graduação alcoólica de quatro a quatorze por cento em volume, a 20°C, obtida pela fermentação alcoólica de uma solução de mel de abelha, sais nutrientes e água potável (Brasil, 2009). Alguns produtores adicionam suplementos comerciais no mosto com o propósito de suprir a deficiência do mel em nitrogênio e minerais, de modo a melhorar a qualidade do produto final (Ferraz, 2015). Nos últimos anos, diversos pesquisadores brasileiros têm estudado a produção e suplementação de hidromel com fontes alternativas, como polpa de frutas (Queiroz *et al.*, 2023, Silva *et al.*, 2022, Amorim *et al.*, 2018, Anunciação *et al.*, 2017, Mascarenhas *et al.*, 2017), adição de pólen (Queiroz *et al.*, 2023), extratos naturais como suplemento de fermentação (Araújo *et al.*, 2020, Araújo *et al.*, 2022, Almeida, 2020, Sampaio, 2019).

Há outras bebidas alcoólicas elaboradas a partir de mel, como o hidromel *braggot* feito com grãos de malte (mosto cervejeiro) e mel; hidromel *brandy*, onde após a etapa de fermentação é feita a aguardente de mel, obtida pela destilação do hidromel (Iglesias *et al.*, 2014). A aguardente de mel é obtida pela destilação do hidromel e, de acordo com o regulamento europeu, apenas caramelo pode ser adicionado como forma de adaptar a cor e mel como adoçante para a aguardente final. A bebida resultante deve ter um teor alcoólico mínimo de 35% e características sensoriais derivadas do mel (Anjos; Frazão; Caldeira, 2017). A produção de hidromel no Brasil ainda é incipiente, predominantemente concentrada em pesquisas e produções artesanais, com apenas algumas fábricas registradas. De acordo com Machado (2020) a produção de hidromel no contexto brasileiro se mostra bem relevante do ponto de vista econômico e biotecnológico, podendo ser uma das nações pioneiras nesse “novo” mercado. O país é um dos maiores produtores de mel no mundo e com qualidade

internacionalmente reconhecida. Portanto, há uma oportunidade de desenvolver um produto a partir do mel que, atualmente, acaba sendo vendido como mercadoria ou “commodity”.

O Brasil é um dos países líderes no ramo da fruticultura, sendo o terceiro maior produtor mundial de frutas (FAO, 2020). A utilização de frutas nativas como matéria-prima para produção de bebidas fermentadas se apresenta como uma das soluções para minimizar as perdas dos frutos. A jaca (*Artocarpus integrifolia* L) é uma fruta pertencente à família Moraceae, nativa das regiões tropicais da Ásia e amplamente cultivada e consumida em países como Índia, Bangladesh, Tailândia, Indonésia, Filipinas, Malásia e Sri Lanka (Mitra, 2020). De acordo com Triphaty (2024) a jaca pode ser dividida em polpa, sementes e casca (incluindo eixo central e fibras). A polpa representa cerca de 30 % do peso total do fruto, as sementes aproximadamente 12 a 18 %, enquanto a casca e demais partes não comestíveis (casca externa, eixo, fibras) perfazem os restantes 52 a 60 %. Componentes florais não fertilizáveis, presentes principalmente na casca e no eixo central, são ricos em sabor e aroma, mas pouco usados para consumo in natura devido ao elevado teor de fibras.

Entre as alternativas para o aproveitamento industrial de frutas está a produção de aguardente, uma bebida com alto teor alcoólico, obtida por fermentação de uma mistura açucarada, seguida de destilação (Palmeira, 2024). A cachaça, obtida a partir do caldo da cana-de-açúcar, é a aguardente mais consumida no Brasil, porém, o grande desperdício de frutas no país favorece a produção de mais variedades de aguardentes (Parente, 2014).

Os métodos de imobilização de microrganismos têm ganhado atenção nas últimas décadas e estão sendo aplicados com sucesso na produção de álcoois, ácidos orgânicos, enzimas e na indústria de alimentos para produção de vinho e cerveja (Pereira *et al.*, 2014). Na indústria de bebidas também se utiliza a imobilização celular para otimizar a clarificação, com o objetivo de remover algumas etapas do processo, como a filtração, e conseguir uma fácil remoção dos microrganismos (Deng *et al.*, 2019). A produção de hidromel é frequentemente realizada por células livres de *Saccharomyces cerevisiae*, porém, células imobilizadas podem aumentar a taxa de fermentação e reduzir os custos operacionais permitindo reutilizar a biomassa fermentativa em diferentes lotes (Sousa-dias *et al.*, 2021).

O presente trabalho tem como objetivo principal desenvolver uma tecnologia para a obtenção de uma bebida fermento-destilada, utilizando a técnica de imobilização de leveduras em suportes de alginato de cálcio e fibra de jaca no processo fermentativo, e suplementação natural do mosto de mel com extrato de farelo de arroz e polpa de jaca. O aproveitamento sustentável da jaca, com uso da polpa e da fibra, para produção de uma bebida de alto valor

agregado incrementa o uso de produtos apícolas e da fruticultura no ramo industrial com impactos positivos econômicos, sociais e ambientais.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Desenvolver uma tecnologia para a obtenção de uma bebida fermento-destilada de mel suplementada com jaca (*Artocarpus integrifolia* L), com leveduras imobilizadas em diferentes suportes.

2.2. Objetivos específicos

- Realizar a caracterização físico-química do mel, extrato de arroz e da polpa e fibra de jaca;
- Realizar a hidrólise enzimática da polpa de jaca;
- Imobilizar a levedura *Saccharomyces bayanus* em suportes de alginato de sódio e fibra de jaca;
- Utilizar a suplementação natural do mosto com extrato aquoso de farelo de arroz e polpa de jaca hidrolisada;
- Avaliar a melhor condição de imobilização no processo fermentativo com delineamento experimental 2² em hidromel suplementado com polpa de jaca e diferentes tipos de suporte;
- Testar o desempenho da levedura com o reaproveitamento do melhor suporte em 3 ciclos fermentativos;
- Comparar o processo fermentativo de produção do hidromel com levedura livre em suspensão e imobilizada;
- Realizar a destilação para a produção de aguardente de hidromel;
- Realizar o envelhecimento da aguardente em barril de carvalho;
- Avaliar os parâmetros físico-químicos durante o período de envelhecimento;
- Depositar uma patente do processo e produto desenvolvidos.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. APICULTURA NO BRASIL

A apicultura tem sido uma atividade rentável para muitos produtores rurais brasileiros, contribuindo para o desenvolvimento sustentável de várias comunidades ao gerar renda, inclusão social, fixação do produtor no campo e por apresentar baixo impacto ambiental (Balbino *et al.*, 2015). De acordo com o IBGE (2024) a produção de mel no Brasil tem batido recordes nos últimos anos, posicionando o país com destaque global (Figura 1). Em 2024 foram produzidas 61 mil toneladas de mel, atingindo a posição de 11º produtor no ranking mundial. A região Nordeste tem ganhado destaque na produção nacional de mel, e em 2022 ultrapassou a Região Sul, sendo responsável em 2023 por 39,9% do total nacional. Estados como Paraná, Rio Grande do Sul e Piauí lideram a produção, enquanto mais de 80% do mel brasileiro é exportado, consolidando a presença do país no mercado internacional (Sebrae, 2025).

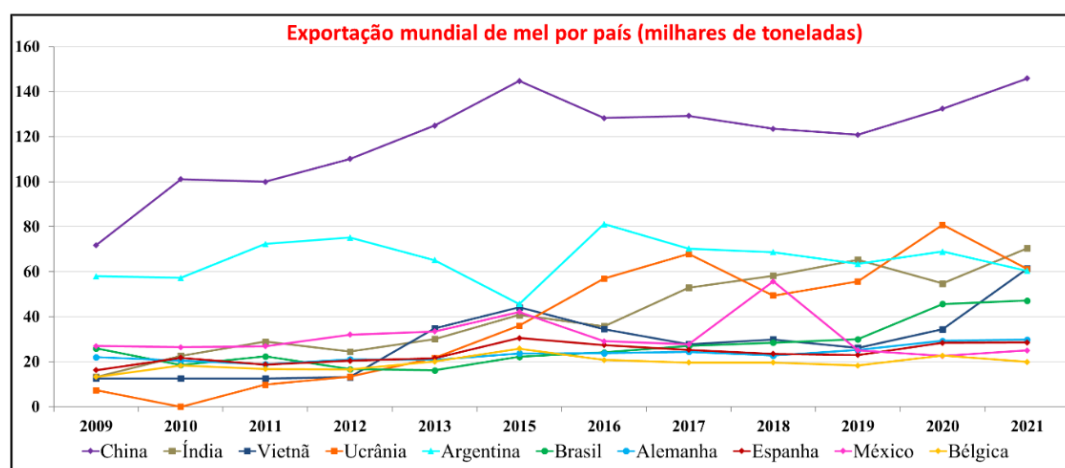


Figura 1: Maiores exportadores de Mel natural (em milhares de toneladas).

Fonte: Silva *et al.* (2023).

As exportações de mel do Brasil estão muito concentradas no mercado norte-americano. Neste contexto, os EUA têm imensa importância para a cadeia do mel brasileiro, pois importou em 2018, por exemplo, cerca de 91% do mel orgânico produzido pelo Brasil (Silva *et al.*, 2023; USDA, 2020). De acordo com Vidal (2020) o Brasil possui a maior capacidade de produção de mel orgânico do mundo, sendo o Nordeste uma região com elevada competitividade no mercado mundial de produtos apícolas. O diferencial do mel nordestino está na baixa contaminação por pesticidas e por resíduos de antibióticos, uma vez que o maior percentual do mel produzido na Região é proveniente da vegetação nativa e com a exploração racional de abelhas.

O consumo per capita de mel no Brasil situa-se entre os menores do mundo, com 0,06 kg/pessoa/ano em 2017, enquanto nos Estados Unidos gira em torno de 0,6 kg/pessoa/ano (Vidal, 2020). As grandes dificuldades com a comercialização no mercado interno estão associadas à visão de que o mel é um produto terapêutico em detrimento do seu valor como alimento. Outro problema importante é o preço ao consumidor, que é elevado, quando comparado à remuneração do produtor (Khan *et al.*, 2014). Diante deste cenário é necessário buscar estratégias para melhor explorar o mercado interno, uma vez que o consumidor brasileiro mais frequente de mel possui poder aquisitivo mais elevado e é mais exigente quanto a padrões de higiene, valores nutricionais e praticidade (Vidal, 2020).

O mel no Brasil pode ser produzido durante todo o ano devido a sua flora diversificada, por consequência do país possuir um vasto território e uma variabilidade climática grande (Marchini *et al.*, 2007). Apesar de significativa, a participação do Brasil no mercado mundial de produtos apícolas ainda pode ser ampliada, pois o país apresenta condições favoráveis para o desenvolvimento da apicultura, tais como sua extensão territorial, a existência de floradas diversificadas e clima que possibilita produção ao longo do ano (Junior, 2020). A apicultura é um importante setor do agronegócio brasileiro, não só pela obtenção de produtos como o mel, a própolis, o pólen, a cera, a geleia real e a apitoxina, mas também pela grande contribuição da atividade para o aumento da produtividade das culturas agrícolas por meio da polinização (Barbosa *et al.*, 2017). Essa prática sustentável também é essencial para a preservação da biodiversidade (Sebrae, 2025).

3.2. MEL: DEFINIÇÃO, ORIGEM, CLASSIFICAÇÃO

O mel é um produto que vem sendo consumido e utilizado pela humanidade desde civilizações muito antigas, tendo indícios de seu uso em pinturas rupestres desde os tempos da pré-história (Junior, 2020). É o principal produto obtido da apicultura, sendo atualmente largamente consumido em todo o mundo. Também é amplamente utilizado na indústria de alimentos, farmacêutica e de cosméticos (Pereira, 2008). Por definição, O mel é uma substância doce natural, produzida pelas abelhas a partir do néctar das flores (mel floral) ou das excreções de insetos sugadores das partes vivas das plantas (mel de melado) (Fernandes *et al.*, 2018). O mel brasileiro pode ser classificado segundo sua origem como floral ou melato, procedimento de obtenção como mel escorrido, prensado ou centrifugado e pela sua apresentação e/ou processamento em mel, mel em favos, com pedaços de favo, cristalizado, cremoso e filtrado) (Brasil, 2000).

O mel floral é obtido a partir do néctar das flores, um líquido açucarado produzido pelos vegetais e armazenado em nectários com a finalidade de atrair polinizadores e regular a concentração de açúcares no floema (Koblitz, 2011). De acordo com Silva et al. (2006) melato é uma palavra que refere-se às excreções em forma de líquidos açucarados, de um grande número de espécies de insetos homópteros que vivem como parasitas sugadores da seiva elaborada do floema das plantas. Estes líquidos açucarados, passam pelos mesmos processos enzimáticos, mas diferem nas suas propriedades físico-químicas e sensoriais.

3.2.1. Composição e propriedades físico-químicas

A principal composição do mel é representada pelos carboidratos, que constituem 95% do peso seco do mel (Chin e Sowndhararajan, 2020). Além dos carboidratos, o mel possui uma composição complexa, podendo conter em torno de 200 substâncias diferentes, como açúcar, água, minerais, proteínas, vitaminas, lipídios, ácidos orgânicos, compostos fenólicos e outros (Araújo *et al.*, 2020c; Pereira, 2008). Segundo Awulachew (2025), a composição do mel é altamente variável e depende de múltiplos fatores, incluindo a origem floral, as condições climáticas, a espécie de abelha, as práticas de coleta e armazenamento, bem como o estado fisiológico da colônia e o solo da região produtora.

A Instrução Normativa nº 11 de 20 de outubro de 2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), define a composição do mel como uma solução concentrada de açúcares com predominância de glicose e frutose. Contendo ainda uma mistura de outros hidratos de carbono, enzimas, aminoácidos, ácidos orgânicos, minerais, substâncias aromáticas, pigmentos e grãos de pólen, podendo conter cera de abelhas procedente do processo de extração (Brasil, 2000).

Em relação às características sensoriais, o sabor e aroma devem ser característicos de acordo com a sua origem e a consistência variável de acordo com o estado físico em que o mel se apresenta (Brasil, 2000). A cor do mel pode variar de acordo com a sua origem floral, sendo possível diferenciar as diferentes floradas utilizadas na sua obtenção. Este parâmetro pode variar desde quase incolor a pardo escura, que depende do conteúdo de minerais e fatores climáticos, como temperatura e tempo de armazenamento (Resende; Rodrigues, 2015). Araújo *et al.* (2020c) em sua pesquisa avaliaram as características bioquímicas, físico-químicas e melissopalínológicas de dois tipos de mel, um claro e um escuro, obtidos no mesmo período de produção. O mel escuro apresentou maior teor de sólidos solúveis, cinzas e teor proteico em relação ao mel claro. As concentrações (mg.Kg⁻¹) de potássio (1062), sódio (584,48), fósforo

(168,57), cálcio (50,96), magnésio (11,16) e ferro (2,07), foram 1,73, 1,71, 2,55, 1,73 e 1,44 vezes, respectivamente, maiores que as do mel claro. Em relação ao teor de compostos fenólicos, a concentração desses compostos no mel escuro (64,35 mg.100g⁻¹) foi 321% maior. Não houve diferença significativa entre as concentrações lipídicas. Um total de 26 tipos de pólen, distribuídos em 14 famílias botânicas, foram identificados entre as amostras de mel, neste aspecto o mel claro apresentou a maior diversidade de grãos de pólen, com 26 tipos.

Variedades de mel podem ser identificadas por sua cor, gosto, sabor, e maneira de cristalização (Silva *et al.*, 2006). A viscosidade do mel depende de muitos fatores, incluindo a composição e a temperatura, sendo o conteúdo de água o parâmetro mais importante (Abu-jdayil *et al.*, 2002). Por depender do conteúdo de água do mel, a viscosidade está grandemente ligada a sua densidade relativa; quanto menos água, maiores serão a densidade e viscosidade do produto (Venturini, 2007).

O mel é constituído essencialmente de vários açúcares, predominantemente D-frutose e D-glicose (Araújo *et al.*, 2020c). Os açúcares do mel são responsáveis por algumas das suas qualidades e propriedades, tais como viscosidade, higroscopicidade, granulação, valor energético e atividade antimicrobiana (Ribeiro, 2013). Vitaminas, minerais, compostos fenólicos, ácidos orgânicos, proteínas e enzimas representam uma fração menor do mel. Essa composição está fortemente ligada à origem botânica (Rao *et al.*, 2016, Araújo *et al.*, 2020c).

O teor de umidade é um dos parâmetros mais críticos na qualidade do mel, geralmente variando entre 15% e 20%, e é influenciado pela origem floral, condições climáticas, práticas de colheita e métodos de armazenamento (Sarkar *et al.*, 2025). O teor de umidade é considerado um importante parâmetro de qualidade por prognosticar a vida de prateleira do produto, além da capacidade do mel em permanecer estável e livre de fermentação indesejável (Vargas, 2006). A legislação brasileira estabelece um teor de umidade máximo de 20%, tanto para méis florais quanto para os de melato (Brasil, 2000).

De acordo com Sarkar *et al.* (2025) O mel é uma substância biogênica complexa, cuja composição inclui uma variedade de compostos orgânicos e inorgânicos, entre eles proteínas e aminoácidos. Embora o teor proteico do mel seja relativamente baixo, geralmente em torno de 0,2%, sua presença é significativa para a caracterização físico-química e funcional do produto, influenciando propriedades como atividade antioxidante, estabilidade e valor nutricional.

O mel possui a maioria dos elementos minerais essenciais para o organismo humano, especialmente o selênio, manganês, zinco, cromo e alumínio (Silva *et al.*, 2006). Os sais minerais presentes no mel podem ser modificados por fatores relativos às abelhas, apicultor, clima, solo e origem botânica (Carvalho *et al.*, 2005).

O hidroximetilfurfural (HMF) pode ser utilizado como um indicador de qualidade do mel, pois sua concentração varia de acordo com o tempo e temperatura de armazenamento do produto. A concentração de HMF é um indicador não apenas de armazenamento excessivamente longo e inadequado dos méis, mas também de tratamento térmico excessivo ou possível adulteração (Kędzierska-Matysek *et al.*, 2025).

Na composição do mel também estão presentes as enzimas, flavonoides e compostos orgânicos. Os ácidos orgânicos (cerca de 0,57% m/m da composição do mel) são responsáveis pela acidez do mel e contribuem para o seu sabor único, e também auxiliam para sua estabilidade frente ao desenvolvimento de microrganismos (Carvalho *et al.*, 2005).

Os flavonoides estão entre as moléculas com maior atividade antioxidante, desse modo, quanto maior a quantidade de compostos fenólicos no mel, maior é sua capacidade antioxidante (Ribeiro, 2013; Araújo, 2014). De acordo com Pereira (2007), a capacidade antioxidante do mel varia com a origem floral e está correlacionada positivamente com a cor e seu conteúdo de água, méis escuros com alto teor de água, possuem maior potencial antioxidante. Com alto valor energético, o mel é conhecido também por suas propriedades já relatadas, em vários estudos, como antioxidante, antimicrobiana, calmante, regenerativa de tecidos, antiviral, antiparasitária, anti-inflamatória (Silva *et al.*, 2006).

3.3. AGUARDENTE DE MEL

As aguardentes são bebidas alcoólicas obtidas por destilação de um líquido que contém etanol em sua composição como resultado da fermentação de açúcares contidos na matéria-prima (Lima, 2011). De acordo com Silva *et al.* (2011) as matérias-primas utilizadas na produção de aguardentes devem incluir, basicamente, elevados teores de sacarose ou outro carboidrato, desde que este último possa ser convertido em açúcares simples que serão metabolizados pelas leveduras fermentativas.

De acordo com a Legislação brasileira (Brasil, 2009), aguardente de fruta é a bebida com graduação alcoólica de 36 a 54% em volume, a 20°C, obtida do destilado alcoólico simples da fruta, ou pela destilação do mosto fermentado da fruta, possuindo a bebida a denominação da sua matéria-prima de origem. A destilação deverá ser efetuada de forma que o destilado tenha o aroma e sabor dos elementos naturais voláteis contidos no mosto fermentado, derivados dos processos de fermentação ou formados durante a destilação. Já a aguardente composta, é a bebida com graduação alcoólica de 38 a 54% em volume, a 20°C, resultante da adição de

substância de origem vegetal ou animal, inclusive mel, na aguardente ou no destilado alcoólico simples ou na mistura destes ingredientes alcoólicos (Brasil, 2009).

Também conhecido como vinho de mel, o hidromel é considerado uma das primeiras bebidas fermentadas originadas há milhares de anos (Rivaldi *et al.*, 2009). A bebida encontrou sua maior popularidade no norte da Europa, devido principalmente à disponibilidade de matéria prima para a sua produção e às condições climáticas desfavoráveis ao cultivo de uvas para elaboração de vinho na região (Pereira, 2008).

Segundo Gomes (2010) o hidromel pode ser classificado em seco, licoroso, doce e espumoso, como resultado da sua tecnologia de fabricação. Sua produção depende do tempo de fermentação, da quantidade de mel utilizada e da graduação alcoólica resultante da adição de aguardente. De acordo com Gupta e Sharma (2009), o mel tem sido usado há séculos no preparo de bebidas, podendo ser fermentado para produzir diferentes tipos de hidromel que podem ter sabores diversos dependendo da origem floral do mel e os aditivos e leveduras utilizados na fermentação. Há outras bebidas alcoólicas elaboradas a partir de mel, como o hidromel *braggot* feito com grãos de malte (mosto cervejeiro) e mel; hidromel *brandy*, onde após a etapa de fermentação é feita a aguardente de mel, obtida pela destilação do hidromel (Iglesias *et al.*, 2014).

A aguardente de mel é obtida pela destilação do hidromel e, de acordo com o regulamento europeu, apenas caramelo pode ser adicionado como forma de adaptar a cor e mel como adoçante para a aguardente final. A bebida resultante deve ter um teor alcoólico mínimo de 35% e características organolépticas derivadas do mel (Anjos; Frazão; Caldeira, 2017). Qualquer tipo de hidromel pode ser destilado para produzir brandy com alto teor alcoólico, qualquer tipo de mel pode ser utilizado, mas há preferência para os mais aromáticos (Vidrih; Hribar, 2016). A produção de bebidas alcoólicas como aguardente de mel, da mesma forma que o hidromel, é uma maneira de aumentar o valor agregado ao mel. As bebidas destiladas de mel são raramente encontradas no mercado, mas tem alto valor agregado (Anjos; Frazão; Caldeira, 2017).

O hidromel brandy, ou aguardente de mel, é classificado como hidromel que foi submetido ao processo de destilação (Mead Brewing, 2012). O hidromel lituano Midus enriquecido com diferentes extratos de flores e ervas é destilado para produzir uma bebida fortificada com mais de 75% de álcool. Medovec é um hidromel brandy esloveno que contém de 32 a 35% de álcool (Vidrih; Hribar, 2016). A aguardente de mel é produzida através da fermentação por leveduras do mosto de mel diluído em água a 22° Brix com adição, por exemplo, de polpa de fruta, sucos e aditivos químicos para fermentação (Gupta; Sharma, 2009).

Como matéria-prima para a aguardente, a qualidade do hidromel é importante por conta da sua influência na bebida destilada final. Esta qualidade depende de diversos fatores, como o tipo de mel, proporção de água e aditivos, seleção da levedura e concentração e ponto final da fermentação (Araújo *et al.*, 2020; Ramalhosa *et al.*, 2011).

A cachaça é a aguardente mais produzida e consumida no Brasil, considerada um patrimônio histórico e cultural decretada pelo Congresso Nacional em 2016 (Parente, 2014; Ibrac, 2022). De acordo com o Anuário da Cachaça do MAPA (2024) o Brasil tem aproximadamente 5.9 mil marcas de cachaça e aguardente disponíveis no mercado para comercialização, coleção e degustação pelos apreciadores e colecionadores destes destilados. No ano de 2023 houve um crescimento de 18,5 % em relação ao total de produtos registrados e Minas Gerais é o estado que lidera a produção nacional. A exportação de cachaça em 2023 superou o montante de 20 milhões de dólares, evidenciando a valorização da cachaça e ampliação do número de países importadores da bebida típica e exclusiva do Brasil, com 76 países de destino sendo os Estados Unidos o maior mercado em valor.

O mercado de aguardentes tem diversificado seus produtos. Dessa forma, a utilização de mel e frutas nativas é uma alternativa para o desenvolvimento de bebidas, gerando renda para micro e pequenos apicultores e agricultores rurais (Lima, 2011).

3.3.1. Processamento do hidromel

Na produção de hidromel, o preparo do mosto, principalmente no tocante a concentração de açúcares (°Brix), bem como a determinação do tempo final da fermentação são fatores que definem os seus diferentes tipos (Gupta; Sharma, 2009). O hidromel é produzido considerando as etapas de preparação e correção do mosto, preparo do pé de cuba, inoculação de leveduras, fermentação, clarificação, maturação e envase (Matietto *et al.*, 2006). A preparação do mosto consiste basicamente na mistura de água e mel, embora a proporção de água possa ser substituída por suco de fruta, a depender do tipo de hidromel a ser produzido (Pereira, 2013).

O método tradicional para a elaboração de hidromel consiste na diluição do mel em água para obter um mosto com teor de sólidos solúveis de 22°Brix a 30°Brix, seguido de ajuste de pH, suplementação do mosto e inoculação. Avanços no processamento têm sido reportados na literatura, com o uso de células imobilizadas, reuso de células (Silva *et al.*, 2022), suplementação com aditivos naturais (Araújo *et al.*, 2020b, Amorim *et al.*, 2018), além da

possibilidade de obtenção de derivados como aguardente (Antunes, 2024; Melo, 2012; Lima, 2011) e espumante (Figura 2).

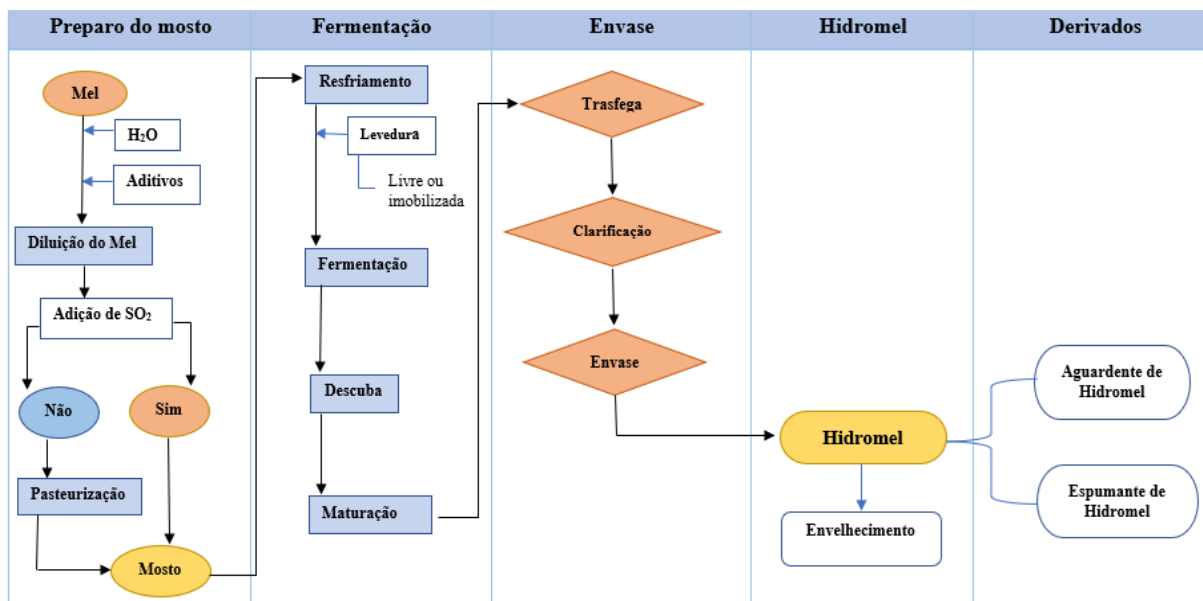


Figura 2: Fluxograma do processamento de hidromel.

Fonte: Almeida *et al.* (2020) com adaptações.

A qualidade final do hidromel depende da fonte do mel, das leveduras e dos aditivos utilizados (Gupta; Sharma, 2009). As características do mosto como o pH, quantidade de açúcares e os níveis de nutrientes influenciam diretamente na velocidade da fermentação e, consequentemente, no resultado final (Araújo *et al.*, 2020a; Cuenca *et al.*, 2016).

Durante o processo fermentativo, alguns problemas podem ocorrer, sendo o mais comum a incapacidade de atingir o teor alcoólico desejado, fermentações longas e a heterogeneidade do produto final (Pereira *et al.*, 2014). O elevado teor de açúcares no mel torna o processo fermentativo bastante moroso, sendo a variedade do mel, a estirpe da levedura, os nutrientes disponíveis e o pH do meio (Navrátil *et al.*, 2001), variáveis importantes que afetam a produção e qualidade do hidromel (Mileski, 2016). Diversos estudos têm sido desenvolvidos com o uso de extratos de feijão caupi, soja, grão de bico, farelo de arroz como fontes de proteínas visando melhorar o metabolismo microbiano durante o processo fermentativo (Sampaio, 2019; Almeida, 2020; Araújo *et al.*, 2020b, Araújo, 2021, Queiroz *et al.*, 2023).

No Brasil, o consumo do hidromel ainda é baixo, principalmente por se tratar de uma bebida pouco conhecida e produzida, na maioria dos casos, de forma artesanal. Porém, percebe-se que a procura tem aumentado nos últimos anos, decorrente do seu aparecimento em séries de TV, filmes e livros e impulsionados pelo público *geek*, que cultuam a cultura medieval e fantástica, e *nerd* (Crusco, 2020; Barbosa; Martins, 2017). Atualmente, temos fábricas e start-

ups de hidromel, devidamente registradas, nos estados de São Paulo, Rio Grande do Sul e Bahia com uma variedade de produtos em escala industrial, sendo destacados e premiados internacionalmente por sua qualidade. A Bahia teve em 2024 o primeiro registro de empreendimento para produção de hidromel junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o que representa um marco na produção e fortalecimento da bebida na região Nordeste.

3.3.2. Suplementação e processo fermentativo

A fermentação tradicional do hidromel é um processo demorado que pode levar de semanas até meses para se completar. A qualidade do produto final é variável, assumindo que a produção desse produto muitas vezes ocorre de maneira artesanal, sem a devida padronização (Pereira *et al.*, 2015). Os avanços científicos realizados para a produção do hidromel incluem o desenvolvimento de novas formulações de aditivos para suplementação do mosto, uso de diferentes microrganismos, otimização das condições de fermentação, reuso de células e melhorias no processamento (Iglessias, 2014; Araújo, 2021; Silva *et al.*, 2022).

Apesar das altas concentrações de açúcares fermentescíveis, o mel é deficiente em nitrogênio, minerais e fatores de crescimento necessários para estimular o crescimento de levedura e consequente fermentação (Gupta; Sharma, 2009). Em função desta carência de nutrientes, baixo pH e baixa concentração de minerais, a produção de hidromel demanda um longo tempo de fermentação (Gomes *et al.*, 2013). Devido ao baixo teor de compostos nitrogenados do mel, a produção de hidromel requer uma suplementação do mosto com nutrientes (Piatz, 2014).

Antes da fermentação diversos aditivos como polpas ou sucos de frutas, ácido cítrico, pólen e extratos naturais como suplementos não-convencionais podem ser adicionados para otimizar o processo (Araújo *et al.*, 2020b; Sampaio, 2019; Almeida, 2020; Roldán, 2011). Estes aditivos são usados para melhorar as taxas fermentativas, a produção de álcool e as características finais do hidromel (Pereira *et al.*, 2014; Vidrih; Hribar, 2007)

A suplementação do mosto de hidromel com fontes de nitrogênio assimilável, minerais e vitaminas tem se mostrado eficaz na aceleração da fermentação, na prevenção do desenvolvimento de contaminantes e redução da produção de compostos indesejáveis, contribuindo para a melhoria da qualidade sensorial (González Viejo *et al.*, 2020). As fontes de nitrogênio são os nutrientes de maior interesse por parte dos pesquisadores envolvidos com pesquisas na produção de hidromel (Ferraz, 2015). No Brasil diversos extratos obtidos de

fontes alternativas têm sido utilizadas na suplementação do mosto, como extrato de feijão caupi (Araújo *et al.*, 2020b; Almeida, 2020; Sampaio, 2019), extrato de farelo de arroz (Queiroz *et al.*, 2023) e farelo de soja (Araújo, 2021).

Uma diversidade de aditivos tem sido foco de pesquisas na suplementação de hidromel, alguns deles estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1: Suplementos naturais usados na produção de hidromel.

País	Suplementos	Leveduras	t (dias)	T (°C)	Referências
Japão	Arroz koji e arroz preto	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ET99, W4 e K7	8	30	Teramoto, Sato e Ueda (2005)
Japão	Arroz preto e arroz polido	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> vínica n.4	4	25	Koguchi, Saigusa e Teramoto (2009)
Espanha	Pólen	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ENSIS-LE5®		25	Roldán <i>et al.</i> (2011)
Brasil	Pólen	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , levedura de panificação (Saf-Instant).	7	36	Kempka e Mantovani (2013)
Colômbia	Pólen	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (UVAFERM, LALVIN-QA23 and FERMIBLANC AROM)	16-20	30	Hernández, Serrato e Quicazan (2015)
Brasil	Polpa de tamarindo	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Montrachet	12	30	Anunciação <i>et al.</i> (2017)
Brasil	Polpa de abacaxi	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Montrachet	12	30	Mascarenhas <i>et al.</i> (2017)
Polônia	Suco de cereja cornalina	<i>Saccharomyces bayanus</i> Safspirit fruit e <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Safspirit malt	14	22	Adamenko <i>et al.</i> (2018)
Brasil	Acerola	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> AWRI796	12	30	Amorim <i>et al.</i> (2018)
Polônia	Sementes de uva em pó, xaropes de <i>shokeberry</i> e de dente de leão	<i>Saccharomyces bayanus</i> Safspirit Fruit	16	22	Kawa-Rygielska <i>et al.</i> (2019)
Brasil	Extrato de feijão caupi	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Safbrew T-58) e <i>Saccharomyces bayanus</i> (Premier Blanc e Premier Cuvée)	10	30	Araújo <i>et al.</i> (2020)
Itália	Groselha preta	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> EC1118	20 – 30	30	Chitarrini <i>et al.</i> (2020)
Brasil	Extrato de gengibre, polpa de abacaxi	<i>Saccharomyces bayanus</i> (Premier Cuvée)	12	30	Almeida (2020)
Brasil	Extratos de soja e farelo de arroz	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Montrachet e Safbrew T-58),	11	30	Araújo <i>et al.</i> (2021)

		<i>Saccharomyces bayanus</i> (Premier Blanc)			
Brasil	Polpa de tamarindo	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Montrachet and AWRI 796)	12	30	Silva <i>et al.</i> (2022)
Brasil	Polpa de jaca, pólen e extrato de farelo de arroz	<i>Saccharomyces bayanus</i> (Premier Blanc)	12	30	Queiroz <i>et al.</i> (2023)

Onde: t: tempo de fermentação e T: temperatura da fermentação.

Fonte: Adaptado de Araújo *et al.* (2020a).

A utilização de polpas de frutas como suplementos na fermentação tem sido estudada por diversos autores. Anunciação *et al.* (2017), Mascarenhas *et al.* (2017) e Amorim *et al.* (2018), avaliaram em seus trabalhos o efeito da suplementação do mosto de mel com polpa de abacaxi, polpa de tamarindo e polpa de acerola, respectivamente, na fermentação de hidromel por cepas de *Saccharomyces*. Os resultados reportados demonstram que a utilização de diferentes concentrações de polpa de frutas otimizou as condições fermentativas da produção de hidromel, com aumento da produção de etanol, maior viabilidade celular, e elevada produtividade volumétrica.

A fermentação alcoólica ocorre devido à conversão de açúcares em etanol pela ação de microrganismos. Elas são responsáveis por converter açúcares e outros componentes presentes no mosto em etanol, dióxido de carbono (CO₂), além de 16 compostos voláteis desejáveis que conferem a qualidade da bebida (Oliveira, 2001).

As leveduras *Saccharomyces cerevisiae* vem sendo utilizadas há milhares de anos para produção de alimentos e bebidas (Ferreira; Sousa; Lima, 2010). Estas leveduras devem apresentar características com alta tolerância ao álcool, demonstrar rápida adaptação e fermentação no meio e produzir a melhor concentração de etanol. O processo de fermentação alcoólica de açúcares conduzido pelas leveduras, que tem como principais produtos o álcool etílico e gás carbônico, é descrito pela equação de Gay-Lussac, demonstrada na Figura 3 (Aquarone *et al.*, 2001).

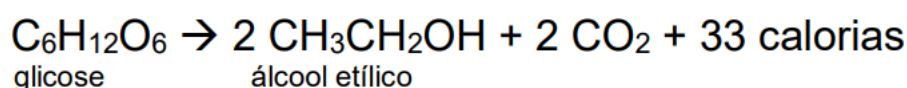


Figura 3: Equação de Gay-Lussac.

Fonte: Adaptado de Aquarone *et al.* (2001).

Resumidamente, a fermentação alcoólica, um processo que ocorre em condições de anaerobiose, é iniciada com a glicólise de uma molécula de glicose, produzindo duas moléculas

de ácido pirúvico e duas moléculas de ATP. Posteriormente, as duas moléculas de ácido pirúvico geradas na primeira reação são convertidas em duas moléculas de acetaldeído e duas moléculas de CO₂. Por último as moléculas de acetaldeído são então reduzidas por duas moléculas de NADH, formando duas moléculas de etanol (Tortora *et al.*, 2016; Aquarone *et al.*, 2001).

A fermentação se inicia assim que o inóculo contendo as leveduras é adicionado ao mosto, sendo dividida em 3 fases: a lag, em que as leveduras estão se adaptando ao meio, iniciando a multiplicação celular; a fase exponencial, em que o metabolismo está em alta atividade com o grande crescimento do microrganismo e ocorre grande produção de CO₂ e etanol; e a fase estacionária, em que, como consequência de menor quantidade de substrato disponível, a atividade fermentativa é reduzida abruptamente (Alvarenga, 2011).

No geral, as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* metabolizam a glicose, obtida através da atividade catalítica da invertase sobre o açúcar. As leveduras descarboxilam o ácido pirúvico a CO₂ e acetaldeído pela ação da enzima piruvato descarboxilase. Sequencialmente, ocorre a reação de redução do acetaldeído a etanol catalisado pela álcool-desidrogenase, enquanto o NADH é oxidado a NAD⁺ formando principalmente etanol e gás carbônico (Mendes *et al.*, 2013; Badotti *et al.*, 2014).

Recomenda-se que a fermentação ocorra em temperaturas em torno dos 30°C, pois em baixas temperaturas o metabolismo da levedura é reduzido e em temperaturas mais altas as bactérias termofílicas podem se desenvolver, produzindo sabores e aromas indesejados (Guimarães, 2013).

3.3.3. Processamento de Aguardente

As bebidas fermento-destiladas têm como principal característica o teor alcoólico bem superior ao de bebidas fermentadas. Além do etanol, outros compostos chamados secundários estão presentes e são os principais responsáveis pelo sabor característico destas bebidas (Janzantti, 2004). A produção de destilados geralmente segue um processo que engloba cinco etapas principais: (1) extração da matéria-prima, (2) fermentação com leveduras selecionadas, (3) destilação do mosto fermentado, (4) envelhecimento em barris de madeira e (5) diluição final para ajuste do teor alcoólico (Puentes *et al.*, 2018).

A destilação é um processo físico-químico fundamental para a separação de componentes em misturas líquidas, no qual o aquecimento provoca a vaporização seletiva dos constituintes, que posteriormente são condensados por resfriamento, possibilitando a obtenção

de frações purificadas ou concentradas (Santos; Pereira, 2022). A destilação concentra o etanol e os compostos secundários essenciais, determinando o perfil químico da aguardente e influenciando diretamente sua qualidade sensorial e estabilidade do produto final.

Durante a destilação do mosto fermentado para produção de aguardente, o destilado pode ser dividido em três frações principais: cabeça, coração e cauda. A fração de cabeça, que representa de 5% a 10% do volume total destilado, contém maior concentração de compostos orgânicos leves, incluindo metanol e outros compostos responsáveis por um sabor forte e desagradável (Botelho *et al.*, 2020). A fração do coração concentra entre 80 a 90% do etanol, sendo a porção nobre destinada ao envelhecimento e comercialização, coletada até que o teor alcoólico atinja um nível predeterminado, geralmente 1 a 1,5 °GL acima do alvo para o produto final (Liu; Wang, 2021). A fração de cauda, por sua vez, apresenta compostos pesados, com pontos de ebulição maiores que os do etanol e da água, representando de 10% a 15% do volume destilado total; essa fração confere sabor e aroma desagradáveis, além de reduzir a qualidade do produto final (Câmara, 2018; Gonçalves *et al.*, 2016)

Além dos seus componentes principais, água e etanol, a aguardente apresenta, ainda que em baixas concentrações, componentes secundários formados principalmente durante a fermentação alcoólica e selecionados pelo processo de destilação e pela etapa de maturação do destilado (Miranda *et al.*, 2008). As aguardentes recém-destiladas apresentam-se incolores, com gosto ardente, agressivo, sabor repugnante, além de buquê irregular, não sendo recomendado o seu consumo imediato. Contudo, torna-se necessário a alteração parcial da composição química do produto após sua destilação (Venturini Filho, 2005).

O envelhecimento da aguardente em barris de madeira promove alterações físico-químicas que reduzem a percepção alcoólica e aumentam a complexidade sensorial da bebida, destaque para notas amadeiradas, adocicadas e maior suavidade ao paladar (Botelho *et al.*, 2020). Segundo Pineau *et al.* (2021), durante o envelhecimento da aguardente em barris de madeira, ocorrem reações entre os compostos originais do destilado, como álcoois, ácidos e ésteres, e os extrativos da madeira, resultando em perfis sensoriais mais complexos e suaves. Essas interações químicas promovem a redução da aspereza alcoólica e o desenvolvimento de notas amadeiradas e adocicadas, contribuindo para a melhoria da qualidade da bebida.

De acordo com Miranda *et al.* (2008) durante o envelhecimento de bebidas destiladas normalmente ocorre uma diminuição do pH e das concentrações de álcoois metílico e etílico enquanto que há um aumento da acidez, da cor e das concentrações de acetato de etila, aldeído acético, cetona e dos compostos fenólicos (taninos).

3.4. JACA

A jaca é uma espécie vegetal oriunda do sudeste asiático, pertencente à Família Moraceae, Subfamília Artocarpoideae, Gênero *Artocarpus* e Espécie *Artocarpus heterophyllus*. Difundiu-se em terras brasileiras no séc. XVIII, tendo seu principal habitat a floresta amazônica e a costa tropical (Basso; Moura, 2017).

A jaqueira (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) é uma das diversas espécies de fruteiras exóticas introduzidas no Brasil que se adaptou às condições climáticas da região Nordeste (Silva, 2019). Sua exploração se dá de forma extrativa, o fruto possui um bom preço no mercado interno e tem um enorme potencial para a exploração, porém a jaqueira ainda é incluída no catálogo de frutíferas subutilizadas (Bezerra; Da Silva Junior; De Lira Júnior, 2013). O Nordeste é a região onde mais se produz jaca no Brasil, mas nem toda a produção do fruto é consumida pela população local e o excedente acaba sendo perdido ou utilizado como ração animal (Souza *et al.*, 2020).

O fruto apresenta bagos que podem ser de consistência um pouco endurecida ou totalmente mole, daí a distinção de duas variedades muito conhecidas e denominadas popularmente de ‘jaca-mole’ e ‘jaca-dura’ (Souza *et al.*, 2009). As composições química e biológica variam entre as duas variedades, e apesar do crescimento da sua demanda em alguns países devido a seus benefícios econômicos e nutricionais, a jaca ainda é uma cultura subutilizada (Ranasinghe; Marapana, 2019).

Da fruta comem-se os gomos, ou seja, a polpa amarela, que, quando madura, possui um forte cheiro característico. De acordo com Khan *et al* (2023) a jaca é uma espécie arbórea de múltiplos usos, valorizada não apenas por seu fruto comestível mas também por sua madeira resistente, propriedades medicinais e potencial em aplicações industriais, como alimentos processados, nutracêuticos e embalagens biodegradáveis.

3.4.1. Composição físico-química e valor nutricional

A jaca tem três partes principais: o eixo do fruto, o perianto e os bulbos. O eixo contém o núcleo, o látex e os arilos. A jaca contém células lactíferas que são responsáveis pela produção de látex, que é uma seiva de natureza pegajosa. O perianto contém a casca e os bulbos, a parte comestível, e as sementes (Ranasinghe; Maduwanthi, 2019). As partes não comestíveis da jaca incluem a casca espinhosa, o perianto e o núcleo central (Xu *et al.*, 2018).

A jaca apresenta elevada concentração de carboidratos, minerais como cálcio, fósforo, ferro, potássio e vitaminas A, C e do complexo B, além de fibras alimentares e compostos

bioativos, o que reforça seu potencial nutricional e funcional (Dias *et al.*, 2023). De acordo com Anvar Hussain *et al.* (2020) a jaca é uma das raras frutas ricas em vitaminas do complexo B, contendo quantidades significativas de vitamina B6 , riboflavina, niacina e ácido fólico. Também é rica em carotenoides, como betacaroteno, neoxantina e zeaxantina, que a tornam uma excelente fonte de vitamina A. As altas quantidades de compostos fenólicos e flavonas a tornam uma fruta rica em antioxidantes. O fruto chega a pesar até 10 kg, atinge um comprimento de 40 cm, e nasce diretamente no tronco e nos galhos mais grossos da jaqueira (Figura 4).



Figura 4: Jaca colhida na cidade de Amélia Rodrigues - Bahia.

A jaqueira produz frutos de pesos variados, que são compostos por cinco componentes principais: casca, bagos, sementes, mesocarpo e pedúnculo. A casca é composta por partes da flor que não foram fecundadas e cada conjunto de bago e semente representa uma fruta única (Basso; Moura, 2017).

Aproximadamente 50% da massa do fruto da jaca é composta por casca e estruturas florais não fertilizáveis, que são geralmente descartadas como resíduos devido ao seu alto teor de fibras e baixa palatabilidade, embora apresentem aroma característico e potencial para aproveitamento industrial em bioprodutos sustentáveis (Chakraborty *et al.*, 2024; Sarangi *et al.*, 2023).

3.4.2. Aproveitamento do Fruto

A jaca é considerada uma cultura milagrosa em alguns países asiáticos. Seu fruto possui uma estrutura única, aroma intenso e sabor marcante. É considerada uma das frutas mais pesadas que crescem em árvores no mundo. Apesar disso, é amplamente subutilizada (Khan *et al.*, 2023). A jaca é uma espécie tropical versátil amplamente utilizada por seu fruto comestível, consumido tanto maduro quanto verde, além de sua madeira resistente, propriedades medicinais e crescente potencial em aplicações industriais, como alimentos funcionais, nutracêuticos e materiais biodegradáveis (Ye *et al.*, 2025).

A jaca é consumida preferencialmente in natura. Contudo, nas regiões tropicais, sobretudo no Brasil, obtêm-se também geleias, doces de jaca, compotas, chips desidratados e as sementes também são comestíveis, comumente utilizadas na produção de farinha para diversas aplicações (Fonseca, 2016).

De acordo com Ahiduzzaman *et al.* (2024) devido à sua natureza altamente sazonal e à curta vida útil pós-colheita, a jaca é predominantemente consumida fresca durante os meses de pico da colheita. Essa perecibilidade exige o desenvolvimento de tecnologias de preservação e estratégias de processamento com valor agregado para ampliar sua disponibilidade e reduzir perdas.

A polpa, que corresponde a aproximadamente 30% do peso total do fruto, é a parte mais utilizada comercialmente (Bernardino, 2020) (Figura 5). Através da tecnologia é possível agregar valor ao fruto, com o intuito de diminuir o custo com transporte, aumentar seu tempo de vida útil e ainda fabricar novos produtos a partir desta matéria-prima, garantindo a valorização para posterior disseminação (Maity; Bawa; Raju, 2018).



Figura 5: Jaca da variedade mole, madura, após colheita.

De acordo com Khan *et al.* (2023) por ser uma fruta climatérica, a jaca é altamente perecível, o que representa desafios significativos no pós-colheita, incluindo rápida deterioração, vida útil limitada e perdas econômicas substanciais para produtores e vendedores. Esses fatores, combinados com a disponibilidade sazonal e a qualidade inconsistente dos frutos, dificultam sua comercialização mais ampla e integração ao mercado.

A jaca é conhecida como alimento barato no sudeste da Ásia sendo um ingrediente popular consumido em saladas na Tailândia e em comidas típicas na Indonésia (Environmental Nutrition, 2016). É também muito consumida in natura nas regiões tropicais do Brasil, chegando a algumas regiões, como no Recôncavo Baiano, a constituir-se como alimento básico para comunidades rurais (Souza, 2008).

A semente da fruta, muitas vezes, é considerada um subproduto da agroindústria, mesmo apresentando nutrientes como proteínas, fibras, sais minerais e ácidos graxos (Pacheco, 2012). Além da jaca fresca, está sendo difundido no mercado mundial um conjunto de produtos feitos à base de jaca: jaca com mel, jaca enlatada, aroma de jaca, bebidas, sucos (Madruga *et al.*, 2014), kefir (Pablo; Cimafranca, 2022), sorvetes e jaca chips desidratada ou liofilizada, comumente encontrada em lojas de produtos naturais focadas no mercado fitness.

A jaca apresenta elevado teor de carboidratos solúveis, com valores superiores a 10%, o que a torna uma excelente matéria-prima para a produção de bebidas fermentadas, como kefir, aguardente e bebidas probióticas (Pablo; Cimafranca, 2022). Além disso, nos estágios

iniciais de frutificação, o fruto verde é amplamente utilizado como hortaliça em países asiáticos, especialmente na Índia, onde também é tradicionalmente empregado na fabricação de destilados artesanais (Hoang *et al.*, 2024).

3.4.3. Subprodutos da Jaca

Apesar do seu valor nutricional e grandes benefícios para a saúde, a jaca ainda é subutilizada, não é classificada como uma cultura comercial, e raramente cresce em escala regular de plantações devido a sua curta vida útil e opções de processamento insuficientes nas regiões onde ela é cultivada (Ranasinghe; Maduwanthi; Marapana, 2019).

A jaca é muito perecível e durante a maturação rapidamente perde aroma e escurece sua superfície, o que é indesejável (Mondal *et al.*, 2013). Muitas partes da planta, incluindo casca, raízes, folhas e frutos são conhecidas por suas propriedades medicinais na medicina tradicional e popular (Baliga *et al.*, 2011). De acordo com Singh *et al.* (2025) dos subprodutos da jaca, as sementes, que representam cerca de 15 a 25% da massa total do fruto, têm despertado crescente interesse devido ao seu elevado valor nutricional e versatilidade culinária. Tradicionalmente consumidas assadas, cozidas ou grelhadas, essas sementes apresentam sabor agradável e são ricas em carboidratos, proteínas, fibras alimentares e compostos bioativos, como fenólicos e antioxidantes naturais. As sementes de jaca contém aproximadamente 55% de umidade, o que possibilita serem conservadas por um longo período. Mas apesar das possibilidades de aproveitamento, a maioria das sementes ainda é descartada (Zhang *et al.*, 2016).

As sementes desses produtos são ricas em nutrientes tais como proteínas, fibras, sais minerais e ácidos graxos podendo ser utilizados em diferentes alimentos como componentes enriquecedores, minimizando a poluição ambiental (Borges; Bonilha; Mancini, 2006). Aplicando transformações físicas e químicas é possível utilizar o amido de semente de jaca na indústria de alimentos e farmacêutica (Kittipongpatana; Kittipongpatana, 2011).

Segundo Oliveira (2009), a semente quando assada e moída produz farinha utilizável para preparo de biscoitos, doces, entre outros e na medicina caseira a semente trata desarranjos intestinais. De acordo com Baliga *et al.* (2011), a jaca pode fornecer matéria-prima para uso farmacêutico devido à presença de inúmeros fitoquímicos que lhe conferem efeito antioxidante, anti-inflamatório, antibacteriano, anti-carcinogênico, antifúngico, entre outros.

O fruto no estágio verde também é utilizado no preparo de pickles e “carne de jaca”, muito utilizada na culinária vegana, quando a textura ainda está tenra (Tiwari; Vidyarthi, 2015). De acordo com Fernandes *et al.* (2024) para o desenvolvimento de proteínas vegetais análogas

à carne, a jaca verde está entre as matérias-primas com grande potencial de substituição à proteína animal, pois após passar por um processo de cocção, o mesocarpo, já separado de todas as outras partes da fruta (casca, polpa e caroço), apresenta aparência e textura semelhante à carne de frango cozida e desfiada, sendo chamada popularmente de “carne de jaca”. O uso da “carne de jaca” na culinária vegana/*plant based* e vegetariana tem se popularizado em diversas regiões do Brasil, especialmente na Bahia onde o consumo já é bastante consolidado em diversos pratos. Uma start up do Tocantins, a Carne de Jaca, é a primeira indústria de carne de jaca da região Amazônica que movimenta a bioeconomia e conecta pequenos produtores, beneficiadores, engenheiros de alimentos e chefs de cozinha na criação de novos pratos com este fruto (Sebrae, 2023).

No processamento de jaca, uma grande quantidade de partes não comestíveis como a casca, o mesocarpo e as sementes geram resíduos e são usualmente usadas na alimentação animal (Ranasinghe *et al.*, 2019). Aproximadamente 70% do peso do fruto original da jaca é perdido durante o processamento, na forma de casca e núcleo, ambos ainda não aproveitados e, portanto, contribuem para problemas de descarte e poluição (Sarangi *et al.*, 2023). Essas partes, embora tradicionalmente consideradas não comestíveis, apresentam aroma característico e compostos bioativos, o que abre possibilidades para seu aproveitamento industrial em produtos sustentáveis, como bioplásticos, bioenergia e ingredientes funcionais (Chakraborty *et al.*, 2024).

No Brasil, pesquisas recentes têm reportaram o desenvolvimento de novos produtos, com a produção de bebida probiótica de semente de jaca (Hoang *et al.*, 2024), farinha a partir do eixo central e pívide da jaca (Sousa *et al.*, 2020), de doce sustentável com a polpa, o mesocarpo e a semente torrada (Souza *et al.*, 2020), aproveitamento do mesocarpo da jaca verde na produção de alimento análogo a carne (Fernandes *et al.*, 2024), aproveitamento do mesocarpo da jaca em substituição ao peito de frango (Watanabe, 2017), pão francês (Santos *et al.*, 2012) e quibe (Ladim, 2011) formulados com farinha de semente de jaca. Os produtos visam a valorização e o desenvolvimento de alternativas sustentáveis capazes de explorar o uso racional da jaca, assim como, a potencialidade da sua reutilização dentro da cadeia alimentar (Sousa *et al.*, 2020b).

O crescente interesse por práticas de economia circular e redução de desperdício tem impulsionado pesquisas sobre o uso integral da jaca, incluindo seus subprodutos. Estudos recentes apontam que os resíduos da jaca podem ser valorizados por meio de processos de biorrefinaria, contribuindo para a sustentabilidade da cadeia produtiva e agregando valor ao fruto como um todo (Khan *et al.*, 2023). De acordo com Sarangi *et al.* (2023) componentes

principais como celulose e hemicelulose podem ser facilmente transformados biologicamente em fontes de bioenergia, como etanol, metanol e butanol; compostos fenólicos valiosos e produtos biotecnológicos como pectina, ácido cítrico, bromelina, ácido ferúlico e vanilina; além de muitos outros produtos.

3.5. IMOBILIZAÇÃO CELULAR

O uso de células imobilizadas em fermentação tem sido amplamente abordado em pesquisas ao redor do mundo como uma estratégia para resolver as dificuldades encontradas durante o processo (Plessas *et al.*, 2007). Os métodos de imobilização de microrganismos têm ganhado atenção nas últimas décadas e estão sendo aplicados com sucesso na produção de álcoois e na indústria de alimentos para a produção de vinho e cerveja (Pereira *et al.*, 2014). De acordo com Deng *et al.* (2019) na indústria de bebidas também se utiliza a imobilização celular para otimizar a clarificação, com o objetivo de remover algumas etapas do processo, como a filtração, e conseguir uma fácil remoção dos microrganismos e diminuir o tempo e custos do processo relacionados com o crescimento de inóculo.

A imobilização envolve a retenção de moléculas biologicamente ativas ou inativas, como células, enzimas ou nanocatalisadores, em superfícies ou estruturas tridimensionais que permitem a difusão de substratos e produtos, mantendo a funcionalidade e viabilidade do sistema biológico (Tripathi; Melo, 2021). De acordo com Berillo *et al.* (2024) o hidrogéis oferecem um microambiente protetor para células microbianas imobilizadas, protegendo-as de variações extremas de pH, flutuações de temperatura, solventes orgânicos e compostos inibitórios, ao mesmo tempo em que mantêm a atividade metabólica e aumentam a eficiência dos processos.

A literatura especializada relata que o aprisionamento de microrganismos em um gel é a técnica de imobilização mais utilizada, sendo o alginato de cálcio um dos suportes mais utilizados. Outra técnica consiste na adsorção celular em fibras naturais, como no bagaço de cana-de-açúcar (Batista, 2005). As matrizes utilizadas, o método, a concentração celular inicial e do meio de cultivo, o tamanho das esferas e dos poros são fatores que podem influenciar na eficiência da imobilização celular (Bassani, 2018).

3.5.1. Condução e vantagens de processos fermentativos utilizando células imobilizadas

A imobilização de células microbianas em hidrogéis tem se mostrado eficaz para aumentar a estabilidade fermentativa, protegendo os microrganismos contra variações de pH,

temperatura e compostos inibitórios, além de melhorar o rendimento na produção de etanol (Sahu; Singh, 2024). Segundo Chacón-Navarrete *et al.* (2021), os sistemas de imobilização favorecem a adaptação das células ao ambiente fermentativo, aumentam a resistência a compostos inibitórios presentes no meio e permitem maior concentração celular por unidade de volume, quando comparados aos sistemas com células livres. Além disso, essa abordagem facilita a separação das células do meio reacional e possibilita sua reutilização em ciclos sucessivos, contribuindo para a eficiência e sustentabilidade dos processos industriais.

De acordo com Almonacid *et al.*, 2012 e Duarte *et al.*, 2013 existem muitas vantagens no uso de leveduras imobilizadas em relação ao uso de leveduras livres como: sua repetida utilização resultando em economia nos processos industriais, eliminação da operação de remoção de células livres do produto, aumento da estabilidade e metabolismo celular, que resulta em melhor rendimento de substrato em etanol e menor tempo gasto para a transformação de açúcares em álcool.

3.5.2. Técnicas e suportes para imobilização

De acordo com Silva *et al.* (2007), o método empregado para imobilização celular não deve apresentar efeitos adversos nas propriedades bio catalíticas desejadas, deve ser seguro e simples, requerer poucas etapas e ingredientes para seu preparo, possibilitar a ampliação de escala e ser econômico. As condições de imobilização empregadas irão depender das características do microrganismo empregado assim como das condições do sistema de imobilização, e geralmente poderão ser estabelecidas somente de maneira empírica (Santos, 2005; Sarrouh, 2009).

Os métodos de imobilização celular podem ser divididos pela interação entre a matriz e o agente imobilizante. Tais interações podem ser através de ligações iônicas, covalentes ou adsorção em uma superfície, podendo ser encapsuladas em membranas ou matrizes porosas, ou podem se agrupar através de floculação (Kovaleski, 2019) (Figura 6).

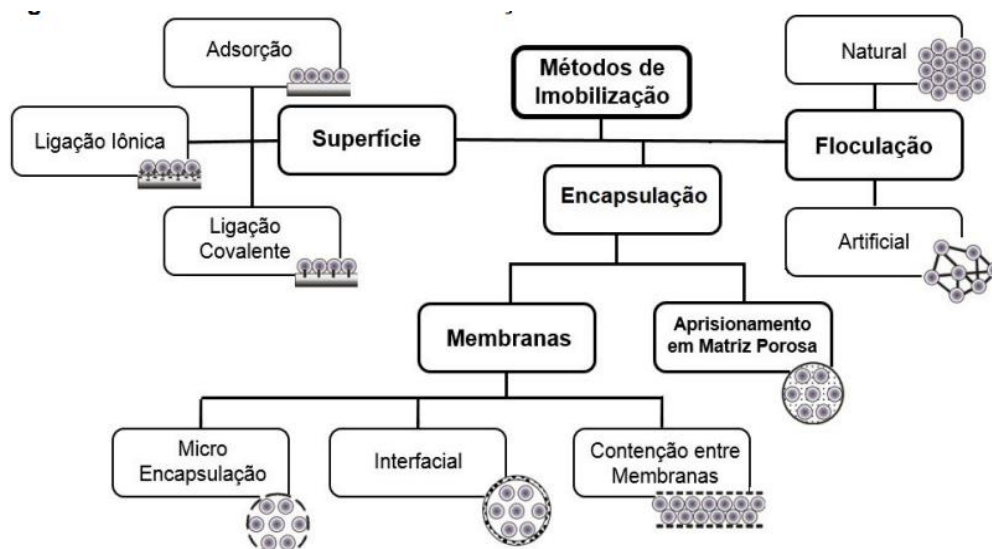


Figura 6: Diferentes métodos de imobilização celular.

Fonte: Kovaleski, 2019.

3.5.3. Imobilização por Aprisionamento em matriz porosa

O aprisionamento em uma matriz porosa é definido como o confinamento das células de levedura dentro de um transportador, permitindo a interação com o meio (metabolismo, transferência de massa, troca de nutrientes, etc.) (Chacón-Navarrete *et al.*, 2021).

De acordo com Duarte *et al.*, 2013, o uso de imobilização celular em alginato de cálcio tem se destacado, devido principalmente às suas características intrínsecas, como biocompatibilidade, porosidade e facilidade de manipulação. Sendo um dos suportes mais utilizados como matriz para o aprisionamento e/ou liberação de uma variedade de proteínas e células. O alginato de sódio é um polissacarídeo natural, derivado principalmente de algas marrons e tem sido o polímero natural mais estudado para a imobilização de células devido à sua biocompatibilidade, por ser menos afetado por ataques microbianos, sem toxicidade e apresenta capacidade de gelificação (Hernandez *et al.*, 2010; Sousa-Dias *et al.*, 2021).

De acordo com Bassani (2018) a gelificação do alginato acontece rapidamente sem mudanças drásticas na temperatura, pH e pressão osmótica, permitindo que a viabilidade do microrganismo imobilizado seja preservada, além de ser barato e facilmente encontrado. O método clássico para a encapsulação com matriz porosa é o método de extrusão (Etchepare *et al.*, 2015). O procedimento de imobilização em gel de alginato de cálcio consiste na adição de uma suspensão de alginato de cálcio com células a uma solução contendo cátions divalentes (por exemplo, o cloreto de cálcio), isso resulta na formação de *pellets* com células imobilizadas,

pois os íons cálcio formam ligações cruzadas com o alginato, aumentando sua viscosidade até a formação do gel (Santos, 2005).

A encapsulação em matriz porosa é uma alternativa para o melhoramento de bioprocessos, existindo inúmeros trabalhos que estudam esse processo para diferentes finalidades (Bassani, 2018). Diversas pesquisas mostram as vantagens da aplicação de células imobilizadas em gel de alginato em estudos sobre fermentação alcoólica. Kovaleski (2019) avaliou o processo de imobilização celular de leveduras através da técnica de encapsulação em alginato de cálcio durante a fermentação alcoólica para produção de sidra, obtendo alta concentração de células e produção de etanol mais rápida.

Zattera *et al.* (2015) imobilizaram leveduras para produção de vinhos e espumantes, avaliando o rendimento, eficiência e a velocidade dos processos fermentativos. O resultado mostrou que a imobilização trouxe pouco impacto aos parâmetros estudados, mas o resultado foi satisfatório pois houve uma otimização do processo com redução de etapas como a remuage, clarificação e filtração das bebidas.

Nikolic *et al.* (2008), estudaram a fermentação do etanol em milho com leveduras imobilizadas em alginato de cálcio, obtendo maior tolerância ao etanol e nenhuma inibição do produto com as células imobilizadas. Vilela *et al.* (2013), estudaram as células S26 imobilizadas em esferas de dupla camada quitosana-alginato com o objetivo de reduzir a acidez volátil do vinho, alcançando uma redução de acidez de 28 para 62% em 72 e 168 h respectivamente, com uma redução no teor de etanol (0.7%).

Na produção de hidromel, autores como Pereira *et al.* (2014), Qureshi e Tamhane (1986) e Sousa-Dias *et al.* (2021) conduziram estudos utilizando a imobilização de leveduras em gel de alginato de cálcio e em seus resultados abordam as vantagens e otimização que a técnica traz ao processo fermentativo.

O problema mais comum que ocorre durante a fermentação alcoólica com células imobilizadas em alginato é a liberação de células do interior das esferas para o meio, devido à desestabilização do gel (Liouni, 2007). Essa ruptura ocorre devido ao crescimento celular, formação e acumulação de CO₂, presença de íons não gelificantes, principalmente Mg, Na ou K, e a presença de agentes quelantes (lactatos, citratos ou fosfatos) (Drichoutis; Nerantzes; Liouni, 2007).

3.5.4. Imobilização Celular em Superfície

O principal método para imobilização de células para a produção de etanol é por adsorção (ligação ao suporte). As vantagens da imobilização dos biocatalisadores neste método são que a imobilização pode ser feita sob condições brandas; a reutilização do suporte do biocatalisador é possível; maior quantidade de células pode ser usada em um suporte com grande área superficial; permite a produção em regime contínuo por longo tempo; já o aumento da estabilidade enzimática e, conseqüentemente, da produtividade; capacidade de parar a reação rapidamente e diminuição dos riscos de contaminação.

De acordo com Kovalski (2019) para a imobilização celular em superfície é necessário a escolha de um suporte adequado, observando-se características como a área superficial, permeabilidade, insolubilidade, capacidade de regeneração, morfologia e composição, natureza hidrofílica ou hidrofóbica, resistência ao ataque microbiano, resistência mecânica, etc. Há três tipos de ligação entre a célula e o suporte na imobilização por superfície: a ligação iônica, covalente e por adsorção.

A ligação entre a célula e o suporte por adsorção se dá por ligações de baixa energia, como Van der Waals, ligações de hidrogênio, hidrofóbicas, entre outras (Elakkiya; Prabhakaran; Thirumarimurugan, 2016). A literatura cita materiais alternativos utilizados nesta técnica, como colmo de cana-de-açúcar (Vasconcelos, 1998), do sabugo de milho (Sá, 2003), colmos de coco e fibra de bambu (Santos, 2008). A fibra de jaca é um material abundante e pouco aproveitado na região nordeste do Brasil, sendo descartado como resíduo, que tem grande potencial para uso como suporte em imobilização celular para produção de etanol. Seu aproveitamento seria uma alternativa à geração de resíduos, menor impacto ambiental e otimização da fermentação alcoólica com utilização de um material orgânico e de baixo custo.

3.6. Otimização do processo fermentativo para produção de hidromel: Uma revisão.

No apêndice A .

3.7. Processo de obtenção de aguardente mel utilizando polpa de jaca hidrolisada como suplemento, levedura imobilizada em fibra de jaca e produto obtido pelo mesmo.

No apêndice B.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. MATÉRIAS-PRIMAS

4.1.1. Jaca: coleta, seleção, obtenção da polpa e fibra

A jaca da variedade mole utilizada no presente trabalho foi obtida em propriedades rurais na cidade de Amélia Rodrigues, Bahia, Brasil, na safra de 2020. As frutas maduras foram colhidas e o estágio de maturação foi determinado com avaliação visual da casca, textura macia e odor frutado característico.

Após a colheita, as frutas foram direcionadas ao Laboratório de Processamento de Alimentos da Universidade Estadual de Feira de Santana, onde foram realizadas as operações de lavagem, sanitização, corte, seleção das bagas e extração do caroço.

A jaca inteira, com casca íntegra, sem contaminações e com aspecto amolecido, foi lavada em água corrente. A sanitização foi feita com imersão do fruto inteiro em água clorada na concentração de 200 ppm durante 15 minutos, seguida de enxague em água corrente para eliminação dos resíduos de cloro e demais sujidades. Todos os utensílios utilizados também foram higienizados seguindo o mesmo procedimento para evitar quaisquer contaminações ao produto final.

Após sanitizados, os frutos foram abertos e separados entre polpa, semente e fibra (parte central). As bagas de jaca selecionadas, sem sementes, foram previamente branqueadas por imersão em água a 60°C por 5 min e resfriadas a 30°C com água a temperatura ambiente, visando inativar enzimas e evitar o escurecimento da polpa durante o congelamento. As bagas foram processadas em liquidificador industrial, com homogeneização durante 3 minutos em velocidade máxima. As polpas foram embaladas em sacos de polietileno, devidamente vedados, e armazenadas em congelamento a -18°C para posterior utilização.

As sementes foram descartadas e a polpa e a fibra foram armazenadas em congelador para posterior utilização. A fibra de jaca foi previamente autoclavada para eliminação de contaminantes e inativação de enzimas a 121°C, durante 10 min (Figura 7).

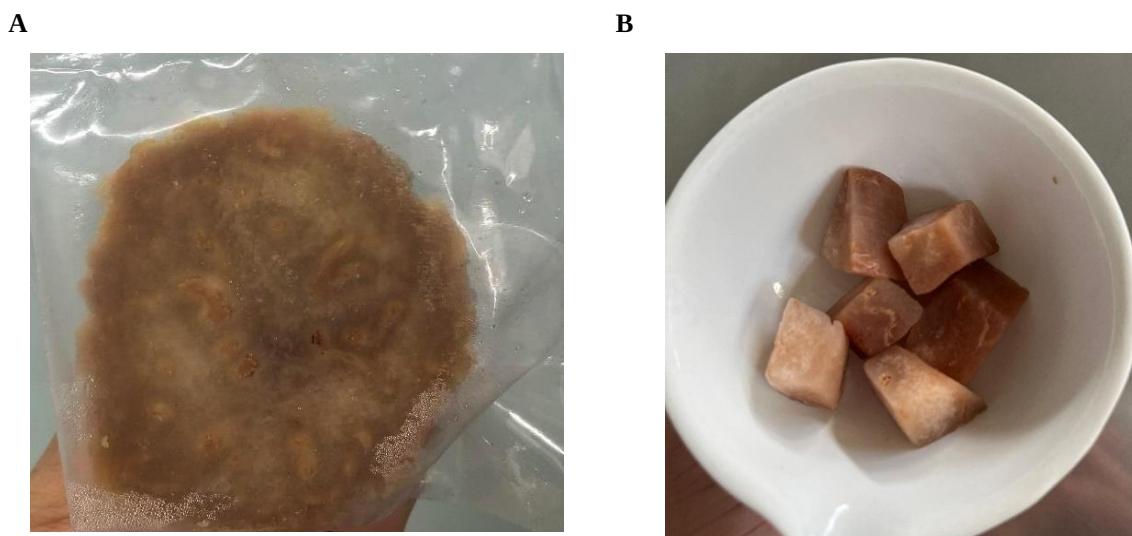


Figura 7: Suporte de fibra de jaca após sanitização (A) e suportes em tamanhos pré-definidos (B).

4.1.2. Enzimas

A solução enzimática comercial Viscozyme L foi produzida pela Novozymes (Dinamarca) e fornecida pela LNF Latino América (Brasil). A enzima Viscozyme-L é uma endobetaglucanase com atividade de xilanase, celulase e hemicelulase.

4.1.3. Mel

O mel floral Favo de Ouro foi obtido com apicultores da agricultura familiar na cidade de Ipirá – BA.

4.1.4. Levedura

No processo fermentativo foi avaliado o desempenho de uma cepa de *Saccharomyces bayanus*, com utilização da linhagem comercial Red Star Premier Blanc. De acordo com o fabricante as propriedades incluem boa resistência contra baixas temperaturas, baixa produção de acetaldeído, alta tolerância a álcool (>16%v/v) e alta taxa de fermentação. Devido às suas características, o perfil do fermento é para produção de vinho e hidromel.

4.1.5. Extrato de farelo de arroz

O farelo de arroz, obtido no comércio local na cidade de Lorena, São Paulo, foi homogeneizado com água destilada na concentração de 150 g/L, e a solução foi autoclavada a 121°C, durante 30 min. O extrato obtido foi centrifugado (Centrífuga Excelsa Baby I FANEM), a uma rotação de 3500 rpm, por 10 minutos e o sobrenadante obtido foi armazenado

em frascos esterilizados e posteriormente pasteurizado para eliminar eventuais contaminações. Este procedimento foi realizado em banho-Maria com aquecimento a 85°C por 15 min e posterior resfriamento até 30°C. Os frascos contendo o extrato de arroz foram armazenados sob congelamento a -18°C até o momento da sua utilização.

4.2. ANÁLISES DE CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS

As análises físico-químicas das polpas de jaca in natura e hidrolisada, fibra de jaca, mel e extrato de arroz foram realizadas no Laboratório de Análise Físico-Química de Alimentos (LAFIQ), da Universidade Estadual de Feira de Santana, seguindo os métodos analíticos descritos abaixo. Todos os experimentos foram realizados em triplicatas e os valores apresentados são médias das propriedades seguidas dos seus respectivos desvios-padrão.

4.2.1. pH

A determinação de pH foi realizada pelo método eletrométrico seguindo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008). O pH das amostras foi determinado utilizando-se um pHmetro (Gehaka PG 1800) calibrado em soluções tampão de pH 4,0 e 7,0, a 25°C.

4.2.2. Acidez Titulável

A determinação da acidez foi realizada pela técnica de titulometria proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). 5 mL da amostra foi diluída em 50 mL de água destilada e titulada com hidróxido de sódio 0,1 M, utilizando 3 gotas de fenolftaleína como indicador.

4.2.3. Cinzas

O método empregado foi o de incineração em mufla (Instituto Adolfo Lutz, 2008). 5g da amostra foi pesada em uma cápsula, previamente aquecida em mufla, resfriada em dessecador e pesada. A amostra foi carbonizada em chapa elétrica e o resíduo incinerado em mufla a 550°C até a eliminação completa do carvão e obtenção de peso constante.

4.2.4. Teor de sólidos solúveis

A determinação foi feita por refratometria, com leitura direta do teor de sólidos solúveis (°Brix) da amostra em Refratômetro digital (Reichert tecnal AR-200), utilizando água destilada para calibração.

4.2.5. Compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu, de acordo com a metodologia proposta por Roesler *et al.* (2007). Neste método os ácidos fosfomolibdídico e fosfotúngstico presentes no reativo na presença do agente redutor formam o complexo molibdênio-tungstênio, com coloração azul característica. Foi feita a leitura da absorbância da amostra em espectrofotômetro (Femto 600 plus) a 760 nm. A quantidade total de fenóis é quantificada através de uma curva padrão de ácido gálico e o resultado é expresso em equivalente de ácido gálico – GAE (mg GAE/100g de amostra).

4.2.6. Teor de nitrogênio assimilável

A avaliação de nitrogênio assimilável no extrato de farelo de arroz foi realizada seguindo a metodologia descrita por Zoecklein (2001). A análise baseia-se na precipitação do dióxido de enxofre na presença de cloreto de bário, adição de formaldeído e titulação da solução com hidróxido de sódio 0,1N.

4.2.7. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens eletrônicas de varredura do suporte de fibra de jaca in natura e após o processo fermentativo para avaliação de suas características físicas (estrutura e porosidade) foram obtidas com o equipamento JSM6610 LV da Jeol, no Laboratório Multiusuário de Microscopia Eletrônica – LAMUME, da Universidade Federal da Bahia (UFBA). As amostras de suporte de fibra de jaca foram previamente preparadas, com secagem em estufa por 24h e cobertas com paládio pelo processo de metalização.

4.3. HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA POLPA DE JACA

O tratamento enzimático da polpa de jaca da variedade mole foi realizado utilizando a solução enzimática comercial Viscozyme L. O procedimento foi realizado no Laboratório de Análise Físico-Química de Alimentos (LAFIQ), da Universidade Estadual de Feira de Santana, segundo a metodologia proposta por Ongaratto e Viotto (2015).

As polpas foram diluídas na proporção de uma parte de polpa e duas partes de água, homogeneizadas e aquecidas até a temperatura do ensaio em banho termostático, após atingir a temperatura desejada a enzima foi adicionada. O tratamento enzimático foi realizado em frascos Erlenmeyer de 250 mL fechado contendo 120 mL de solução, com aquecimento em banho termostático (Nova Ética) e agitação de 150 rpm. Ao final do tratamento a enzima foi

inativada através do aquecimento da solução em banho Maria a 85°C/5min e resfriada até 30°C. A seguir as amostras foram centrifugadas (2000 g) durante 10 min (Centrífuga Excelsa Baby I - Fanem).

4.3.1. Delineamento estatístico no processo de hidrólise

Os ensaios foram realizados segundo um planejamento fatorial 2^3 (Rodrigues, Iemma, 2009) com 3 repetições no ponto central. As variáveis independentes avaliadas foram o tempo de incubação X_1 (20 a 100 min), a temperatura X_2 (30 a 60°C) e a concentração enzimática X_3 (0,01 a 0,09%). A matriz do planejamento experimental com valores codificados e decodificados, 8 ensaios e 3 repetições no ponto central, está descrita na Tabela 2.

Tabela 2: Matriz do planejamento experimental do tratamento enzimático da polpa de jaca.

Ensaio	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Concentração de enzima (%)
	$X_1 (x_1)^{1, 2}$	$X_2 (x_2)^{1, 2}$	$X_3 (x_3)^{1, 2}$
1	100 (1)	60 (1)	0,09 (1)
2	100 (1)	60 (1)	0,01 (-1)
3	100 (1)	30 (-1)	0,09 (1)
4	100 (1)	30 (-1)	0,01 (-1)
5	20 (-1)	60 (1)	0,09 (1)
6	20 (-1)	60 (1)	0,01 (-1)
7	20 (-1)	30 (-1)	0,09 (1)
8	20 (-1)	30 (-1)	0,01 (-1)
9	60 (0)	45 (0)	0,05 (0)
10	60 (0)	45 (0)	0,05 (0)
11	60 (0)	45 (0)	0,05 (0)

¹x representa as variáveis codificadas

²X representa as variáveis decodificadas

A análise estatística foi realizada utilizando software STATISTICA 7.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA), os resultados foram analisados pela metodologia de Superfície de Resposta e análise de variância (ANOVA). Os modelos lineares para cada variável estudada bem como

suas interações são representados utilizando uma função polinomial de primeira ordem (Equação 1), demonstrada a seguir:

$$y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 \quad \text{Equação (1)}$$

Os coeficientes da equação são representados por b_0 (constante), b_1 , b_2 e b_3 (termos lineares) e b_{12} , b_{13} e b_{23} (efeitos das interações entre as variáveis).

4.3.2. Análise de viscosidade da polpa

A viscosidade da polpa de jaca foi determinada utilizando-se viscosímetro Brookfield (modelo DV II+ Pro) Spindle S-04, com velocidade de 30 rpm e temperatura de 24°C. A unidade de medida utilizada para a viscosidade é centipoise (cP).

4.4. PRODUÇÃO DE HIDROMEL

4.4.1. Preparo do inóculo e propagação

A levedura *Saccharomyces bayanus* Red Star Premier Blanc liofilizada foi pesada de acordo com as instruções do fabricante, e a propagação foi realizada em frascos de Erlenmeyer de 500 mL previamente esterilizados contendo 300 mL do mosto de mel e água estéril na concentração de 30° Brix, com pH 4,5. A solução foi agitada em shaker (Tecnal TE-420) nas condições de 30°C a 150 rpm durante 24 h, a fim de obter uma concentração celular aproximada de 10^7 células/mL. Após 24 horas, a solução propagada foi centrifugada (Centrífuga FANEM Excelsa Baby) a 3000 xg durante 10 min, e o sobrenadante descartado.

Todo o volume de leveduras decantado foi adicionado a um único tubo, e a concentração de células do meio (g/L) foi calculada através de uma curva-padrão (Moura, 2015). Esta solução concentrada de leveduras foi utilizada para inoculação nos suportes de alginato de cálcio e fibra de jaca, com concentração inicial de 0,1 g/L de células. 10 gramas de esferas de alginato e fibra de jaca foram inoculadas nos mostos de mel.

4.4.2. Imobilização celular em alginato de cálcio

A imobilização celular e fermentação do hidromel foi realizada segundo um planejamento fatorial 2^2 (Rodrigues, Iemma, 2005), com 4 ensaios e 3 repetições no ponto central (Tabela 3), avaliando os efeitos da concentração de alginato (2, 4 e 6%) e do teor de sólidos solúveis inicial do mosto (20, 26 e 32°Brix) sobre as variáveis dependentes crescimento

celular (g/L), produtividade volumétrica em etanol, rendimento e eficiência do processo fermentativo. As variáveis dependentes serão avaliadas estatisticamente utilizando o *software* Statistica (7.0) através da análise de variância (ANOVA) e obtenção das superfícies de resposta.

Tabela 3: Matriz do planejamento experimental dos mostos de mel com levedura imobilizada em Alginato de Cálcio.

Ensaio	Teor de Alginato de	Teor de Sólidos
	sódio	Solúveis inicial
	(%)	(°Brix)
	$X_1 (x_1)^{1, 2}$	$X_2 (x_2)^{1, 2}$
1	2 (-1)	20 (-1)
2	2 (-1)	32 (1)
3	6 (1)	20 (-1)
4	6 (1)	32 (1)
5	4 (0)	26 (0)
6	4 (0)	26 (0)
7	4 (0)	26 (0)

O alginato de sódio foi diluído em água destilada, segundo o planejamento fatorial, nas concentrações de 2, 4 ou 6%, aquecido para homogeneização e esterilizado em autoclave a 121°C por 20 minutos. Uma quantidade de 10 g da solução foi inoculada com a concentração apropriada de leveduras *Saccharomyces bayanus* (0,1 g/L) e os suportes formados por gotejamento do alginato com leveduras em uma solução de cloreto de cálcio (CaCl_2) a 2%, seguida de resfriamento por 30 min a 4°C (Figura 8).



Figura 8: Esferas de alginato de cálcio contendo células de *S. Bayanus* imobilizadas.

4.4.3. Imobilização celular em fibra de jaca

Para o suporte de fibra de jaca, utilizou-se o eixo central do fruto, com cortes cúbicos de dimensões definidas no planejamento fatorial (Tabela 4), onde avaliou-se o efeito do teor de sólidos solúveis inicial do mosto (°Brix) e o tamanho do suporte (cm²) sobre as variáveis dependentes do processo fermentativo.

Tabela 4: Matriz do planejamento experimental dos mostos de mel com *S. Bayanus* imobilizada em Fibra de Jaca na produção de hidromel.

Ensaio	Suporte de Fibra de	Teor de Sólidos
	jaca	Solúveis inicial
	(cm ³)	(°Brix)
	$X_1 (x_1)^{1,2}$	$X_2 (x_2)^{1,2}$
1	1 (-1)	20 (-1)
2	1 (-1)	32 (1)
3	2 (1)	20 (-1)
4	2 (1)	32 (1)
5	1,5 (0)	26 (0)
6	1,5 (0)	26 (0)
7	1,5 (0)	26 (0)

onde X1, X2 variáveis reais e x1, x2 variáveis codificadas

A imobilização celular nos suportes de fibra de jaca foi realizada em shaker com agitação a 150 rpm, durante 24 h. 10 g de suporte foram colocados em um frasco Erlenmeyer de 500 mL contendo 100 mL de solução salina e 0,1 g/L de leveduras (Figura 9), a solução foi mantida em agitação a 30°C para adsorção das leveduras no suporte.

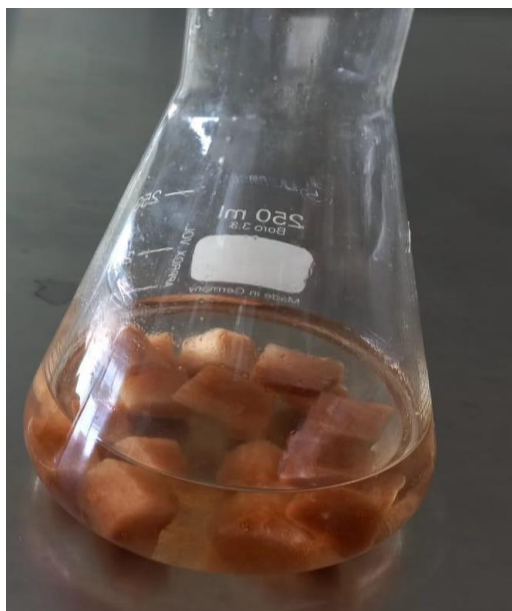


Figura 9: Suporte de fibra de jaca e solução salina para imobilização celular de *Saccharomyces bayanus* por adsorção.

4.4.4. Preparo do mosto suplementado

Para o preparo dos mostos, utilizou-se mel suplementado com 30% de polpa de jaca hidrolisada e 5 g/L de extrato de farelo de arroz. Os ensaios de fermentação de hidromel suplementado com jaca foram realizados em frascos Erlenmeyer de 500 mL contendo 250 mL de meio, pH 4,5, inoculado com células (*Saccharomyces bayanus*) imobilizadas em suportes de alginato de cálcio e incubado em incubadora B.O.D a 30 °C durante 120 horas.

4.5. ACOMPANHAMENTO DAS FERMENTAÇÕES

O processo fermentativo para produção de hidromel tem duração média de 120 h (5 dias). A cada 24 h, 2 mL do mosto foi coletado e avaliado quanto ao teor de sólidos solúveis em refratômetro digital (Reichert Tecnal AR-200), teor de etanol (g/L) em densímetro (DDM 2911, Rudolph Analytical Research), densidade (g/cm³), extrato aparente (g/L) e concentração celular (g/L) em espectrofotômetro. As concentrações de etanol (g/L) e de extrato aparente (g/L) foram obtidas a partir das equações 2 e 3, respectivamente.

$$Etanol \left(\frac{g}{L} \right) = Etanol \left(\% \frac{v}{v} \right) \times 0,789 \times \rho \quad (\text{Equação 2})$$

$$Extrato \text{ aparente} \left(\frac{g}{L} \right) = extrato \text{ aparente} (^{\circ}P) \times \rho \times 10 \quad (\text{Equação 3})$$

Onde: 0,789 g/cm³ é a densidade absoluta do etanol a 20°C e ρ é a densidade absoluta do mosto (g/mL).

4.5.1. Concentração celular nos suportes

A concentração de células imobilizadas, ou seja, a concentração no interior do suporte, foi realizada com diferentes metodologias. Para o alginato de cálcio, as esferas foram imersas em uma solução de citrato de potássio e mantidas em agitação em shaker a 30°C durante 24h para completa dissolução. Em seguida a solução foi centrifugada a 3500 xg por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e o material sólido contido no frasco (leveduras) foi suspenso em água destilada e determinada a concentração de células por espectrofotometria a 600 nm, a quantificação foi realizada através de uma curva padrão de concentração celular (g/L), de acordo com a metodologia proposta por Queiroz (2020).

Para o suporte de fibra de jaca foi realizada uma quantificação por diferença de peso dos suportes antes e após a fermentação, considerando a massa seca de leveduras. 10g de suporte in natura foram secos em estufa a 60°C durante 24h, após secagem o peso foi anotado. Esta massa de suporte seco ($m_{inicial}$) foi submetida a adsorção para imobilização com *S. bayanus* (0.1 g/L) em solução salina e posteriormente foi inoculada no mosto, seguindo para o processo fermentativo. Após o final das 120h de fermentação, o suporte foi removido do mosto e submetido a uma nova secagem, nas mesmas condições (60°C por 24h), obtendo a massa final do suporte (m_{final}) após o crescimento celular. A concentração celular foi obtida através da equação 4 abaixo:

$$C_{leveduras} = m_{final} - m_{inicial} \rho \quad (\text{Equação 4})$$

4.5.2. Avaliação dos parâmetros fermentativos

Para avaliar o desempenho fermentativo foram calculados a produtividade volumétrica em etanol (Q_p), fator de conversão de substrato em produto ($Y_{p/s}$) e eficiência (η), de acordo com a metodologia proposta por Borzani (1986) e Moser (1988).

- Fator de conversão de substrato em produto ($Y_{p/s}$)

O fator de conversão de substrato em produto (g/g) expressa a quantidade de etanol formada por unidade de açúcar consumido em um determinado intervalo de tempo (MAIA, 2002). O cálculo do $Y_{p/s}$ é feito através da equação 5.

$$Y_{p/s}(g/g) = \frac{P-P_0}{S_0-S} \quad (\text{Equação 5})$$

Onde: P_0 : Concentração inicial de etanol (g/L); P : Concentração final de etanol (g/L); S_0 : Concentração inicial de açúcares (g/L) e S : Concentração final de açúcares (g/L).

- Produtividade volumétrica em etanol (Q_p)

A produtividade volumétrica em etanol foi calculada segundo a Equação 6.

$$Q_p \left(\frac{g}{L.h} \right) = \frac{P-P_0}{t-t_0} \quad (\text{Equação 6})$$

Onde: P_0 : Concentração inicial de etanol (g/L); P : Concentração final de etanol (g/L); t_0 : Tempo inicial de fermentação (h) e t : Tempo final de fermentação (h).

- Eficiência fermentativa (η)

A eficiência da fermentação foi calculada com base no rendimento teórico da equação de Gay-Lussac e de acordo com a equação 7.

$$\eta(\%) = \frac{Y_{p/s}^{obtido}}{Y_{p/s}^{teórico}} \times 100 \quad (\text{Equação 7})$$

Onde: $Y_{p/s}^{teórico}$: 0,511 g/g.

4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística do planejamento experimental para avaliação do efeito das variáveis independentes teor de sólidos solúveis inicial (X_1), suporte utilizado (X_2), sobre o desempenho fermentativo do mosto, tendo como variáveis dependentes produtividade volumétrica em etanol (Q_p), fator de conversão de substrato em produto ($Y_{p/s}$) e eficiência (η), foi realizada no software STATISTICA 7.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA). Os resultados

foram tratados com análise de variância (ANOVA) e pela metodologia de Superfície de Resposta (RSM). Os modelos lineares para cada variável estudada bem como suas interações são representados utilizando uma função polinomial.

Após tratamento estatístico e análise dos dados obtidos, foi definido o ponto ótimo para repetição do experimento com a imobilização de leveduras no suporte de fibra de jaca e avaliação da repetição de 3 ciclos fermentativos, comparando com o processo com leveduras livres. Este mesmo experimento foi reproduzido em escala piloto para destilação e produção de aguardente.

4.7. PRODUÇÃO EM ESCALA PILOTO

Foi realizada uma fermentação em maior escala para produção de 8 L de hidromel, nas mesmas condições ótimas estabelecidas após tratamento estatístico, para ser utilizado como matéria-prima no processo de destilação para a produção de aguardente. Na escala piloto, realizou-se também uma fermentação com leveduras livres, para comparação dos parâmetros fermentativos. O processo de produção foi adaptado para um fermentador de bancada, em um recipiente com volume adequado, e o mosto foi mantido em BOD a 30°C durante 5 dias.

4.8. DESTILAÇÃO

O hidromel base suplementado com 30% de polpa de jaca hidrolisada e extrato de farelo de arroz, com teor alcoólico de 14,00% v/v, produzido em escala piloto com volume de 8L, utilizando leveduras imobilizadas em fibra de jaca, foi destilado para obtenção da aguardente

A destilação para produção da aguardente foi realizada no Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Estadual de Feira de Santana. O processo de destilação foi conduzido em um alambique de cobre com capacidade volumétrica nominal de 20 litros. O sistema era composto por caldeira, cabeçote de vaporização, tubo de conexão (pescoço de cisne), condensador de serpentina e recipiente coletor. Antes do início do experimento, o alambique foi higienizado com solução de ácido acético 1% (m/v) e enxaguado com água destilada a 70 °C para eliminação de resíduos metálicos e odores residuais.

A destilação foi realizada em batelada com volume de 8 L, com controle da temperatura na base do alambique por meio de termômetro digital acoplado e conectado ao controlador. O aquecimento foi realizado por meio de resistência elétrica controlada por variador de tensão,

até que a temperatura da caldeira atingisse 85 °C, faixa correspondente ao ponto de ebulição da fração alcoólica. O processo foi dividido em três frações:

Cabeça: Primeira fração ($\approx 5\%$ do volume total destilado), coletada no início da destilação, rica em álcoois superiores e compostos voláteis de baixo ponto de ebulição. Esta fração foi descartada por conter metanol e acetaldeído.

Coração: Fração principal ($\approx 60\text{--}70\%$ do volume total), coletada na fase intermediária da destilação, com maior pureza etanólica e perfil sensorial desejável. O teor alcoólico foi monitorado em tempo real com densímetro de coluna (alcoômetro), mantendo-se entre 40% e 45% (v/v).

Cauda: Última fração ($\approx 25\text{--}35\%$), coletada após queda da graduação alcoólica abaixo de 40% (v/v) e aumento de temperatura acima de 90 °C, contendo compostos de alto peso molecular (furfural, ácidos graxos voláteis, ésteres pesados).

A serpentina de condensação foi mantida submersa em banho de água corrente a temperatura ambiente, garantindo condensação eficiente dos vapores. O destilado foi coletado em frascos esterilizados, imediatamente tampados e armazenados a 4 °C para posterior análise físico-química. A fração coração foi armazenada em barril de carvalho para envelhecimento durante 150 dias.

4.9. ENVELHECIMENTO

A fração coração, obtida após destilação do hidromel base, foi armazenada em barril de carvalho de 2 L de capacidade (Figura 10) durante 5 meses para envelhecimento e maturação. Antes e após o processo foram quantificados teor alcoólico, acidez acética, pH, aspecto visual e cor da aguardente, com o objetivo de avaliar o impacto do processo na qualidade da bebida.



Figura 10: Barril de carvalho utilizado para envelhecimento da aguardente de hidromel.

4.10. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC)

Amostras das aguardentes, fração cabeça, coração e envelhecida, foram submetidas à análise de açúcares remanescentes, álcoois orgânicos, compostos furânicos (Furfural e 5-hidroxtmetilfurfural) e ácidos orgânicos. O preparo das amostras foi realizado em *vials* com as diluições adequadas em água ultrapura (*mili-Q*) para o equipamento de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) com detector de Índice de Refração (IR). As amostras foram injetadas em quintuplicadas e para quantificação foi feita curva analítica com os padrões grau analítico.

Ácidos orgânicos (ácido fórmico e ácido acético), açúcares remanescentes (frutose, glicose, xilose, arabinose), álcoois orgânicos (glicerol, etanol e metanol) e furânicos (Furfural e 5-hidroxtmetilfurfural) foram quantificados por CLAE com detector de IR e coluna HPX-87H (65°C, ácido sulfúrico 0,01 N e fluxo 0,6 mL·min⁻¹), corrida de 55 min de acordo com metodologia adaptada de (Rodrigues *et al.*, 2006).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS MATÉRIAS-PRIMAS

De acordo com a legislação brasileira o mel floral deve apresentar limites máximos de cada parâmetro físico-químico, os valores de referência são mostrados na Tabela 5, com os respectivos resultados das análises físico-químicas:

Tabela 5: Propriedades físico-químicas do mel e limites máximos permitidos pela legislação.

Parâmetro físico-químico	Unidade	Média $\pm$ desvio padrão	Limites
pH	---	$3,84 \pm 0,05$	-
Acidez Total	mEq/kg	$38,81 \pm 0,73$	Máximo 50
Acidez Lactônica	mEq/kg	$13,21 \pm 2,02$	-
Acidez Livre	mEq/kg	$20,60 \pm 2,51$	-
Teor de Sólidos Solúveis	°Brix	$80,70 \pm 0,08$	-
Cinzas	g/100g	$0,32 \pm 0,02$	Máximo 0,6
Compostos Fenólicos	mgGAE/100 g	$37,41 \pm 0,17$	-
Umidade	%	$15,13 \pm 0,26$	-

A caracterização físico-química demonstra que o mel floral Favo de Ouro, proveniente da cidade de Ipirá –BA, colhido no ano de 2019, apresenta padrão de qualidade adequado e se enquadra nos limites estabelecidos pela legislação brasileira. O valor do pH não é uma análise exigida pela legislação para avaliação e controle da qualidade do mel, por isso não há valores estabelecidos para esta grandeza. Este é um parâmetro que pode influenciar na velocidade de formação do hidroximetilfurfural e diretamente relacionado com a composição das flores e área de coleta do néctar. O resultado obtido sugere que o mel está em boas condições e em conformidade com a legislação. Felix (2019) analisou cinco amostras de méis provenientes da Paraíba e obteve valores de pH entre 2,9 e 3,9. O pH ácido é fundamental na limitação dos micro-organismos capazes de se desenvolver no alimento, pois a maioria dos mesmos se desenvolvem em pH em torno da neutralidade (Damasceno, 2012). O valor de pH também pode ser um indicativo para avaliar a origem do mel, com valor inferior a 4,0 caracterizando mel de origem floral e superior a 4,5 para o mel de melato (Azeredo *et al.*, 2003).

Moraes *et al.* (2014), analisando variedades de mel de abelha africanizada de municípios do Rio Grande do Sul encontrou valores de pH de $3,98 \pm 0,1$, acidez total de $33,45 \pm 7,7$ mEq.kg⁻¹. Sodré e Marchini (2004) encontraram o valor médio de acidez total de $26,79 \pm 0,23$ mEq.kg⁻¹ em amostras de mel proveniente de diferentes municípios do Ceará. Os teores de acidez total, lactônica e livre demonstram que o mel analisado está dentro do limite estabelecido pela legislação nacional, indicando ausência de fermentação indesejada. Valores de pH e a acidez no mel estão diretamente relacionados e são decorrentes da presença de diversos ácidos como o glicônico, succínico, málico, acético, cítrico, fórmico, láctico, fólico e

ácido butírico (Borges *et al.*, 2017). Ambos são parâmetros associados ao desenvolvimento de microrganismos. Valores de pH baixo contribuem para a inibição no crescimento e proliferação microbiana sendo assim a presença de inconformidades e de ácidos orgânicos colabora para a estabilidade do mel (Nascimento, 2016; Barros *et al.*, 2010).

Araújo *et al.* (2020), analisaram as características bioquímicas, físico-químicas e melissopalínológicas de duas amostras de mel multifloral claro e escuro, obtidos no mesmo período de produção, provenientes de uma Cooperativa de Apicultores da cidade de Ribeira do Pombal – BA. Estes autores reportam valores similares de sólidos solúveis (79,5 e 81,7 °Brix), e de pH (3,4 a 3,8). Por outro lado os valores de acidez total (27,9 e 35,8 meq.Kg⁻¹) e umidade (18,27 a 18,5%) foram superiores e os de cinzas (0,02 a 0,07%) foram inferiores aos verificados no mel usado no presente trabalho.

O teor de cinzas indica a quantidade de minerais encontradas no mel, constituída principalmente de grandes quantidades de K, Na, Ca e Mg, pequenas quantidades de Al, Fe, Cu, Mn e Zn e traços de Ar, I, F (Gois *et al.*, 2013). Este parâmetro pode variar a depender da origem botânica da flor, expressando a riqueza do mel em minerais. Entretanto, valores acima de 0,6% podem indicar contaminação durante o manejo pelo produtor ou adulterações (Souza, 2012). O resultado obtido demonstra que o mel encontra-se dentro do limite exigido pela legislação brasileira, que estabelece um teor máximo de resíduo mineral no mel puro de 0,6% (Brasil, 2000).

Sousa *et al.* (2018) ao estudar o perfil físico-químico em três marcas de mel produzido no estado do Piauí, encontraram menores teores de fenólicos totais entre 20,57±5,00 e 25,19±2,53 mgEAG.100g⁻¹. Franz *et al.* (2018), em um estudo identificaram os tipos polínicos e o teor de compostos fenólicos totais no mel e na própolis do Pantanal (Mato Grosso), nas análises em 6 amostras reportaram teores de fenóis variando entre 26±12 e 77,25±45,25 mg EGA/g. As diferenças nos teores de fenólicos se justificam pelas diferentes origens do mel, tipo floral, região geográfica e clima.

Na Tabela 6 são apresentados os resultados médios das propriedades físico-químicas da polpa de jaca mole todas as avaliações foram realizadas em triplicata e os resultados são expressos pela média e seu respectivo desvio padrão.

Tabela 6: Características físico-química da jaca variedade mole.

Propriedade	Unidade	JACA MOLE
		Média ± Desvio padrão

Acidez Titulável	% m/m (ácido cítrico)	3,52 ± 0,01
pH	---	5,27 ± 0,02
Teor de Sólidos Solúveis	°Brix	17,08 ± 0,04
Cinzas	% g/100g	0,56 ± 0,02
Vitamina C	mg/kg	30,55 ± 0,93
Compostos Fenólicos	% mgGAE/100 g	41,3 ± 0,52
Viscosidade	cP	3720 ± 1,41

Sabe-se que a composição centesimal em frutas pode ser influenciada por vários fatores, como condições climáticas (luz, temperatura, umidade), composição química do solo e diferenças genéticas (Olivares *et al.*, 2004). A jaca mole possui maiores teores de açúcares totais, compostos fenólicos, sólidos solúveis, acidez e elevada viscosidade, quando comparada a jaca da variedade dura (Queiroz, 2020).

Em seu estudo de caracterização de jaca das variedades mole e dura, Morais e Madalozzo (2020), reportaram teor de cinzas de 1,37±0,13%. O pH e o teor de sólidos solúveis foram próximos aos reportados por Lemos *et al.* (2012), pH na faixa de 4,70 a 4,75 e sólidos solúveis de 17 a 21 °Brix. Bramont *et al.* (2018) avaliando a composição centesimal, mineral e fitoquímica da casca e polpa da jaca, reportaram teor de cinzas de 1,32±0,14% e compostos fenólicos de 69,60±0,01 mg EAG/100g para a polpa. Fatores como clima, solo, região e condições de cultivo podem interferir na composição físico-química dos frutos, o que justifica a variação nos teores encontrados por diversos autores para os parâmetros avaliados.

A Tabela 7 apresenta os resultados dos parâmetros físicos do suporte de fibra de jaca, todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados são expressos pelas suas médias e respectivos desvios-padrão.

Tabela 7: Propriedades físicas do suporte de fibra de jaca.

Parâmetro físico-químico	Unidade	Média ± desvio padrão
Cinzas	% g/100g	0,74 ± 0,05
Umidade	% g/100g	78,20 ± 0,36

Sousa *et al.* (2016) avaliando a qualidade físico-química do eixo central da jaca reportaram valores de cinzas com teor de 1,50% e umidade de 81,08%. Sousa *et al.* (2022) avaliando parâmetros de qualidade física e química do eixo central, mesocarpo e semente de jaca submetidos a diferentes processos de secagem observaram que o eixo central de jaca in natura apresentou teor de resíduo mineral fixo de 2,74% e umidade de 84,99%. Conforme

Balamaze *et al.* (2019), essas diferenças possivelmente podem estar relacionadas aos diferentes períodos de maturação, clima, solo e variedade das frutas.

A Tabela 8 apresenta os valores dos parâmetros físico-químicos do extrato aquoso de farelo de arroz com concentração de 150 g/L.

Tabela 8: Propriedades físico-químicas do extrato aquoso de farelo de arroz na concentração de 150 g/L.

Parâmetro físico-químico	Unidade	Média ± desvio padrão
Compostos Fenólicos Totais	% mgGAE/100 g	131,7 ± 1,41
pH	---	6,00 ± 0,05
Cinzas	% g/100g	0,31 ± 0,03
Teor de Sólidos Solúveis	°Brix	1,53 ± 0,02
Nitrogênio Assimilável	mg/L	15,9 ± 0,18

O farelo de arroz contém quantidades significativas de proteínas, lipídios, fibras, minerais como ferro, magnésio, potássio, fósforo e vitaminas como tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina e outras (Lacerda, 2008). Estes macros e micronutrientes apresentam influência positiva na suplementação do mosto para produção de hidromel, contribuindo para a otimização do crescimento celular e do processo fermentativo.

No arroz, os compostos fenólicos estão associados principalmente ao pericarpo, portanto, o processo de polimento reduz sua concentração no grão, permanecendo no farelo resultante deste beneficiamento (Zhou *et al.*, 2004). Oliveira (2009) em sua pesquisa para avaliação de compostos antioxidantes extratos de farelo de arroz reportaram para um extrato aquoso, teor de compostos fenólicos de $88,0 \pm 6,6 \mu\text{gác.ferúlico.mL}^{-1}$. Souza *et al.* (2012), numa pesquisa para avaliação das atividades antifúngica e antimicotoxina de extratos fenólicos de farelo de arroz, encontraram no farelo pH $6,1 \pm 0,3$, cinzas $10,5 \pm 0,8\%$. O farelo mostrou-se promissor como potencial de aporte de compostos fenólicos, pois apresentou um teor médio de $0,75 \text{ mg CF/g de farelo de arroz}$, valor elevado quando comparado a materiais usualmente estudados como fontes desses compostos.

Ferdern, Furlong e Soares (2007), estudando os efeitos da fermentação nas propriedades físico-químicas e nutricionais do farelo de arroz, reportaram acidez 2.1% e pH 6.5, valor similar ao encontrado nesta pesquisa. Os estudos reportados na literatura avaliam, em sua grande maioria, as composições do farelo de arroz in natura, neste caso divergências nos resultados podem ocorrer por fatores como tipo de farelo utilizado, clima, beneficiamento e etc.

5.2. HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA POLPA DE JACA

A jaca é uma fruta rica em pectina e outros polissacarídeos, que conferem a sua polpa alta viscosidade, por isso a hidrólise enzimática torna-se essencial, especialmente para processos fermentativos. A polpa de jaca apresenta diversas características físico-químicas favoráveis à aplicação em processos biotecnológicos, como seu alto teor de carboidratos que é um fator convidativo para fermentação e produção de bebidas alcólicas (Asquieri *et al.*, 2008).

O tratamento enzimático da polpa de jaca da variedade mole foi realizado utilizando uma solução multi-enzimática comercial de endo-beta-glucanase: Viscozyme L. A Tabela 9 apresenta a resposta de redução da viscosidade da polpa diluída e tratada enzimaticamente em função do tempo, temperatura de hidrólise e da concentração de Viscozyme-L.

Tabela 9: Resultados da hidrólise enzimática nas polpas de jaca mole com Viscozyme L.

Ensaio	Tempo (min)	Temperatura (°C)	[Enzima] (%)	Viscosidade Inicial (cP)	Viscosidade Final (cP)
1	100	60	0,09	248,7	68,1
2	100	60	0,01		71,9
3	100	30	0,09		57,5
4	100	30	0,01		91,2
5	20	60	0,09		103,1
6	20	60	0,01		140,6
7	20	30	0,09		78,7
8	20	30	0,01		121,8
9	60	45	0,05		80
10	60	45	0,05		80,6
11	60	45	0,05		81,9

Devido à alta atividade hidrolítica da enzima observou-se uma alta redução da viscosidade da polpa (57,5 a 140,6 cP), que atingiu reduções com valores de até 77%. A solução enzimática apresenta atividade de xilanase, celulase e hemicelulase, degradando satisfatoriamente substâncias presentes na parede celular dos vegetais. Os coeficientes dos modelos lineares, obtidos após tratamento estatístico, para a resposta viscosidade da polpa de jaca mole tratada com Viscozyme L com os coeficientes de determinação (R^2) que descrevem os modelos propostos são mostrados na Tabela 10.

Tabela 10: Coeficientes do modelo linear que descrevem a viscosidade no tratamento enzimático de polpa de jaca mole em função do tempo, temperatura e concentração da enzima Viscozyme L.

Coeficiente ¹	Viscosidade (cP) ²
b ₀	88,6727
b ₁	-19,44*
b ₂	4,31*
b ₃	-14,76*
b ₁₂	-6,48*
b ₁₃	5,38*
b ₂₃	4,44*
R ²	0.9448

¹Subscrito: 1= tempo; 2= temperatura; 3= concentração enzimática.

²*Significante ao nível de 95% de confiança (p< 0.05).

A análise estatística demonstrou que no tratamento enzimático da polpa de jaca mole com Viscozyme foi obtido valor de coeficiente de determinação (R²) igual a 0,9448, indicando que os modelos propostos explicam adequadamente (>94%) a resposta em função das variáveis independentes. A polpa de jaca mole teve a viscosidade negativamente influenciada pelos efeitos lineares do tempo e concentração enzimática e pelas interações do tempo com a temperatura no tratamento com Viscozyme L. A polpa apresentou maiores reduções (77%) de viscosidade (até 57,5 cP) com o uso de maiores concentrações enzimáticas (0,09%) (Figuras 11 e 12), com valores que variaram entre 140,6 e 57,5 cP.

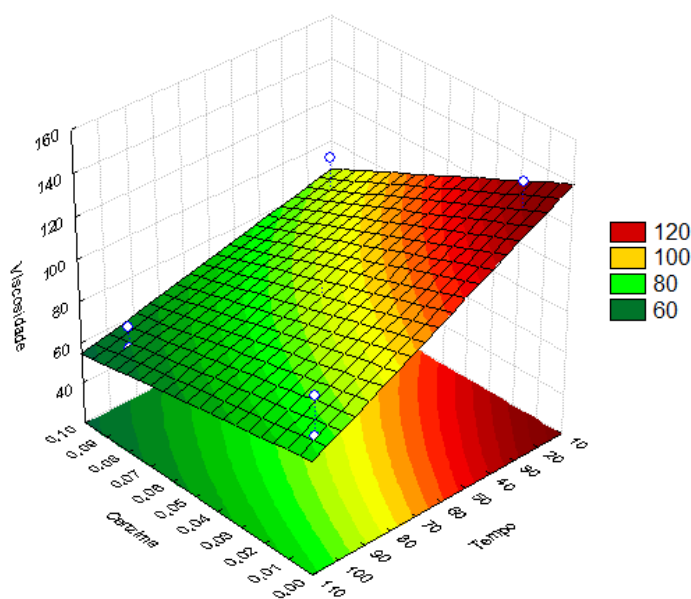


Figura 11: Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto que representa viscosidade da polpa de jaca mole em função do tempo e concentração de enzima Viscozyme L

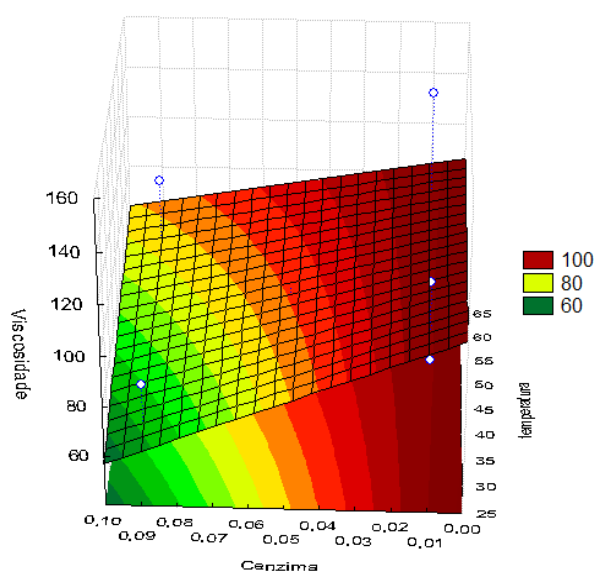


Figura 12: Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto que representa a viscosidade da polpa de jaca mole em função da temperatura e concentração de enzima Viscozyme L.

Queiroz *et al.* (2021) no seu estudo para redução da viscosidade de polpa de jaca mole tratada com duas pectinases comerciais reportaram que para a polpa de jaca mole maiores reduções de viscosidade (até 41.9 cP) foram obtidas com o uso de maiores concentrações enzimáticas, independente da enzima utilizada. A polpa de jaca tratada com Pectinex Ultra SP-L teve sua viscosidade inicial reduzida até valores que variaram entre 108 e 226 cP. A enzima

Pectinex Ultra Clear produziu uma redução elevada da viscosidade inicial, obtendo-se polpas com valores de viscosidade entre 138,1 e 41,9 cP.

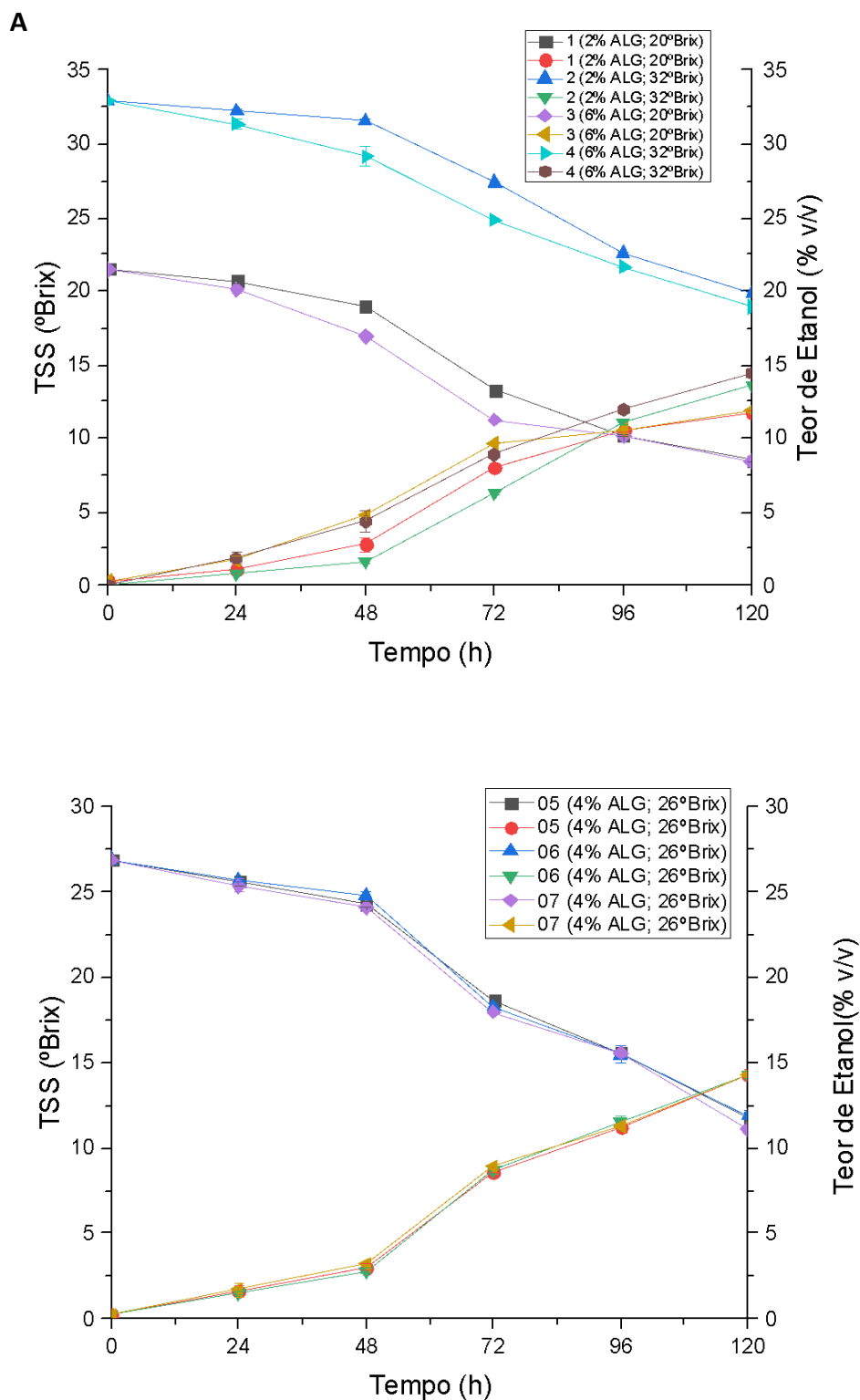
Navarrete *et al.* (2019), num estudo para avaliar as características reológicas e físico-químicas de polpa de jaca hidrolisada com três enzimas comerciais e suas misturas, reportaram que a melhor hidrólise foi obtida com Celluzyme® e Pectinex Ultra Pulp®, resultando em um teor de açúcar redutor de 78,50 mg.mL⁻¹ e redução de 94,7% da viscosidade (7,94 cps). O tratamento estatístico demonstrou que a concentração da enzima é uma função direta do teor de açúcares redutores, enquanto o tempo de incubação é uma função inversa da viscosidade.

No estudo de Bensi *et al.* (2021) o efeito do tratamento enzimático em diferentes concentrações de enzima (0,1 a 0,8%), temperatura de incubação (30 a 45 °C) e tempo de incubação (1 a 5 horas) foi avaliado na hidrólise da casca e dos bulbos de diferentes variedades de jaca. O coeficiente de determinação (R²) obtido foi superior a 0,90, indicando uma correlação entre o rendimento do suco e a concentração de enzima, o tempo de incubação e a temperatura, com redução na viscosidade e no teor de pectina, em comparação com os componentes do suco não tratado. O suco tratado enzimaticamente nas condições ótimas apresentou também aumento significativo na claridade, cor, sólidos solúveis totais, acidez, flavonoides, fenóis, taninos e atividade antioxidante.

Desta forma observa-se que o tratamento enzimático com Viscozyme L realizado nesta pesquisa apresentou alta redução de viscosidade na polpa de jaca mole, assim como as soluções de pectinase, celulase e outras composições enzimáticas apresentadas na literatura por outros autores, demonstrando impacto positivo nas características reológicas, na clarificação, composição e no rendimento produto obtido. Diante dos resultados obtidos, definiu-se como melhor condição de hidrólise enzimática da polpa de jaca mole para uso no processo fermentativo os seguintes parâmetros: 0,09% enzima, 100 minutos e 60°C.

5.3. FERMENTAÇÃO DE HIDROMEL COM IMOBILIZAÇÃO DE LEVEDURA *Saccharomyces bayanus* EM GEL DE ALGINATO DE CÁLCIO

A Figura 13 apresenta os perfis dos teores de sólidos solúveis totais (°Brix) e concentração de etanol (%v/v) durante as 120 h de fermentação do mosto de mel suplementado com polpa de jaca hidrolisada e extrato aquoso de farelo de arroz, por *S. bayanus* imobilizadas em diferentes concentrações de alginato de cálcio e teores de sólidos solúveis iniciais.



É possível verificar que o teor de sólidos solúveis inicial dos mostos teve uma alta taxa de redução desde as primeiras horas de fermentação com leveduras imobilizadas em esferas de alginato de cálcio. Estes comportamentos demonstram que, em todas as condições estudadas, houve um bom consumo do substrato (40 a 60%) e conversão eficiente na produção de etanol (11,8 a 14,4 %v/v), levando a uma otimização do processo fermentativo.

Após 72h de fermentação, todos os meios já apresentavam teor alcoólico acima de 6,3 %v/v (Ponto 2), com máximo de 9,7 %v/v (Ponto 3). De acordo com a legislação Brasileira, hidromel é a bebida com graduação alcoólica de 4 a 14 %v/v a vinte graus Celsius (BRASIL, 2008). Em 72 h, todas as formulações obtiveram teor alcoólico acima de 4 %v/v, logo seriam caracterizadas como hidromel.

Kovaleski (2019), em seu estudo com imobilização em gel de alginato para produção de sidra, reporta que para a síntese de etanol, a sidra com leveduras imobilizadas atingiu um resultado maior e mais constante comparado com a sidra com leveduras livres (aproximadamente 26g/L e 20g/L), havendo também um consumo de substrato mais rápido. Kassim (2012) relata que o efeito inibitório do etanol observado nas leveduras livres é menor quando as leveduras estão sendo protegidas no suporte, sendo essa uma vantagem do método de encapsulação.

O consumo de açúcares mais acentuado (61%), correspondente a um teor de sólidos solúveis de 8,4 °Brix no último dia de fermentação (120 h), foi verificado no mosto com teor de sólidos solúveis inicial 20 °Brix e esferas de imobilização celular com 6% de alginato (Ponto 3). Pode-se observar que maiores consumos de açúcares ocorrem nos mostos com menores teores de sólidos solúveis inicial e com leveduras imobilizadas em esferas com 6% de alginato de sódio. Nesta condição experimental o consumo o substrato e teor de sólidos solúveis começam a estabilizar após 96 h de fermentação, mantendo o valor com poucas variações, até o quinto dia (120 h). Constatou-se boa reprodutibilidade dos dados nos ensaios do ponto central (Figura 13B).

Le e Le (2014), em sua pesquisa, reportaram que leveduras imobilizadas convertem o substrato em produto mais rapidamente do que livres no meio fermentativo. Esta rápida conversão em processos com leveduras imobilizadas também foi observada por Kovaleski (2019), onde verificou-se um decréscimo do teor de sólidos solúveis maior na fermentação utilizando as leveduras imobilizadas e um rápido crescimento celular. A Figura 14 mostra a concentração celular nas esferas de alginato após 120h de processo fermentativo.

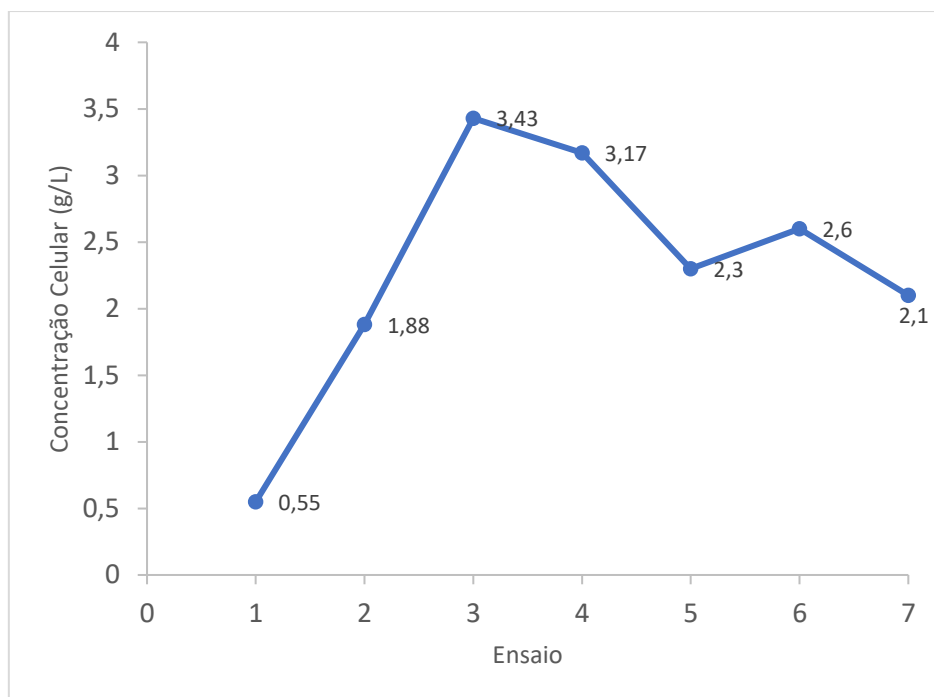


Figura 14: Perfis de concentração celular (g/L) após as 120h de fermentação do mosto de mel por *S. bayanus* imobilizadas em esferas com diferentes concentrações de alginato de sódio e diferentes teores de sólidos solúveis iniciais.

Ao final das 120h fermentação, observou-se que as maiores taxas de crescimento celular (3,43 e 3,17 g/L) foram verificadas nos ensaios com esferas compostas por maiores concentrações de alginato de sódio (6%), seguidas dos ensaios do ponto central (4% de alginato), que apresentaram também melhor estrutura e estabilidade da matriz. Covizzi (2017) relata que a quantificação da biomassa microbiana imobilizada nas esferas é um problema para o método de encapsulação, devido à grande dificuldade com a estabilidade da esfera no processo. Kovalski (2019) aponta também outro aspecto relevante, os reatores eram mantidos em repouso durante todo o tempo de fermentação. Devido a este fator, as esferas de alginato de cálcio eram decantadas e podem não terem conseguido uma troca ideal com o meio, fazendo com que não houvesse homogeneidade nas concentrações de células de leveduras em cada esfera.

No acompanhamento do processo fermentativo observou-se que no tempo 72h, em todos os ensaios do planejamento, foram verificadas as maiores taxas de consumo de substrato e conversão de etanol, com teores de sólidos solúveis entre 11,3 e 27,4°Brix, sendo este o tempo otimizado definido para análise estatística. As esferas de alginato de cálcio recuperadas do mosto após 120h de processo fermentativo são mostradas na Figura 15.

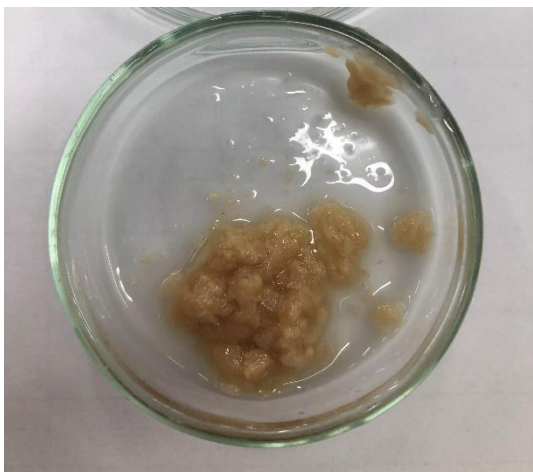
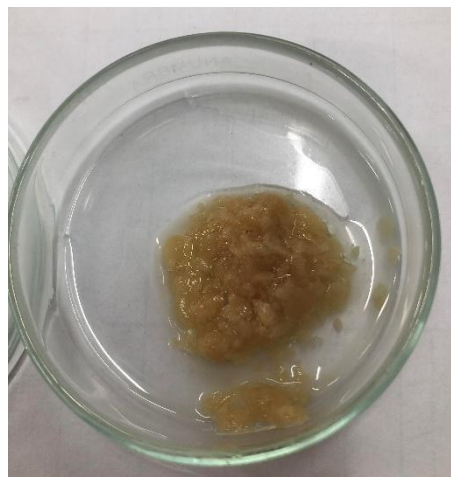
A**B****C****D****E****F****G**



Figura 15: Esferas de alginato de cálcio correspondentes às condições dos ensaios do planejamento fatorial 2^2 recuperadas após processo fermentativo (A (ensaio 1); B (ensaio 2); C (ensaio 3); D (ensaio 4); E (ensaio 5); F (ensaio 6); G (ensaio 7).

As esferas com teores de 4% (ensaio 5, 6 e 7) e 6% (ensaios 3 e 4) de alginato de sódio apresentaram melhor gelificação e estrutura, desempenhando-se como bom suporte na fermentação e com boas propriedades para sua reutilização após recuperação ao final do processo fermentativo. Cordeiro (2008), em sua pesquisa com imobilização de *Saccharomyces cerevisiae* em alginato de cálcio, cita que um dos principais causadores de rompimento no pellet, é o grande acúmulo de CO_2 no interior do mesmo durante o processo fermentativo, e que o tratamento do suporte com nitrato de alumínio $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ aumentou a estabilidade dos mesmos em relação a ruptura. Assim como observado nesta pesquisa, o autor cita que os pellets obtidos utilizando o alginato de sódio na concentração de 3% foram mais estáveis do que os obtidos com teor de 2%.

O tamanho das esferas de alginato assim como a concentração de substrato irá influenciar na transferência de massa pela superfície de contato (Najafpour *et al.*, 2003). Quanto maior o teor de alginato na composição da esfera, maior a estabilidade do gel e melhor a estrutura para encapsulação. Este comportamento é reportado por outros autores em seus estudos (Kovaleski, 2019; Gonçalves; Rodrigues, 2021), quando em altas concentrações de alginato, mais moléculas ficam concentradas no meio, gerando menor porosidade da cápsula e, conseqüentemente, menor difusão de oxigênio para as leveduras. A matriz do gel origina uma barreira que protege o microrganismo dos cátions, ânions e outros eletrólitos durante o processo fermentativo, obtendo taxas otimizadas de consumo de substrato e produção de etanol logo nos primeiros dias de fermentação.

Os resultados das variáveis dependentes do planejamento fatorial 2², com 4 ensaios e 3 repetições no ponto central, em 72h de fermentação do mosto de mel por *S. bayanus* imobilizada em gel de alginato de cálcio, são mostrados na Tabela 11.

Tabela 11: Variáveis dependentes do planejamento fatorial 2² para produção de hidromel com *S. bayanus* imobilizadas em gel de alginato de cálcio, após 72h de fermentação.

Ensaio	Variáveis Dependentes		
	Qp (g/L.h)	Yp/s (g/g)	η (%)
1	0,868	0,400	78,30
2	0,682	0,462	90,34
3	1,047	0,395	77,38
4	0,965	0,441	86,37
5	0,926	0,407	79,57
6	0,926	0,407	79,71
7	0,924	0,403	80,1

Os coeficientes dos modelos lineares para as respostas produtividade volumétrica, fator de conversão de substrato em produto e eficiência fermentativa com os coeficientes de determinação (R²) que descrevem os modelos propostos são mostrados na Tabela 12.

Tabela 12: Coeficientes dos modelos lineares que descrevem a produtividade volumétrica (Qp), Fator de conversão de substrato em produto (Yp/s) e eficiência (η) na produção de hidromel por leveduras imobilizadas em gel de alginato de cálcio.

Coefficiente ¹	Produtividade Volumétrica (Qp) (g/L.h) ²	Fator de conversão de substrato em produto (Yp/s) (g/g) ²	Eficiência fermentativa (η) (%) ²
b ₀	0,9054*	0,4164*	81,681*
b ₁	0,115*	-0,0065	-1,222
b ₂	-0,067*	0,027*	5,257*
b ₁₂	0,026	-0,0040	-0,762

R ²	0,97263	0,83579	0,86302
----------------	---------	---------	---------

¹Subscrito: 1= Teor de Alginato; 2= Teor de Sólidos solúveis inicial.
²*Significante ao nível de 95% de confiança (p< 0.05).

Observou-se que houve um relevante consumo de substrato (0,395 a 0,462 g/g) e formação de etanol (6,3 a 8,9 %v/v) nas primeiras 72h de fermentação, a partir da avaliação do efeito da imobilização celular em gel de alginato de cálcio (2, 4 e 6%), e dos teores de sólidos solúveis iniciais do mosto concentrado de mel (20, 26 e 32 °Brix), sobre o desempenho fermentativo da cepa de *Saccharomyces bayanus* Red Star Premier Blanc, durante 120 h a 30°C e pH 4,5.

A análise estatística demonstrou que, com o uso da imobilização celular para produção de hidromel, após 72 h de fermentação, todos os coeficientes de determinação (R²) das respostas estudadas foram satisfatórios, com valores superiores a 0,83. O que indica que os modelos conseguem descrever 83% da variabilidade das respostas do processo fermentativo em função das variáveis independentes. As variáveis dependentes do processo fermentativo produtividade volumétrica, fator de conversão de substrato em produto e eficiência apresentaram coeficientes de determinação (R²) iguais a 0,97263; 0,83579 e 0,86302, respectivamente.

A produtividade foi positivamente influenciada pelos efeitos lineares do teor de alginato de sódio (Tabela 12). O efeito de todas as variáveis foi significativo ao nível de 95% de confiança. O efeito do teor de sólidos solúveis inicial foi o único que apresentou influência negativa. A superfície de resposta que descreve a produtividade volumétrica em função das esferas de alginato de cálcio e do teor de sólidos solúveis totais é apresentada na Figura 16.

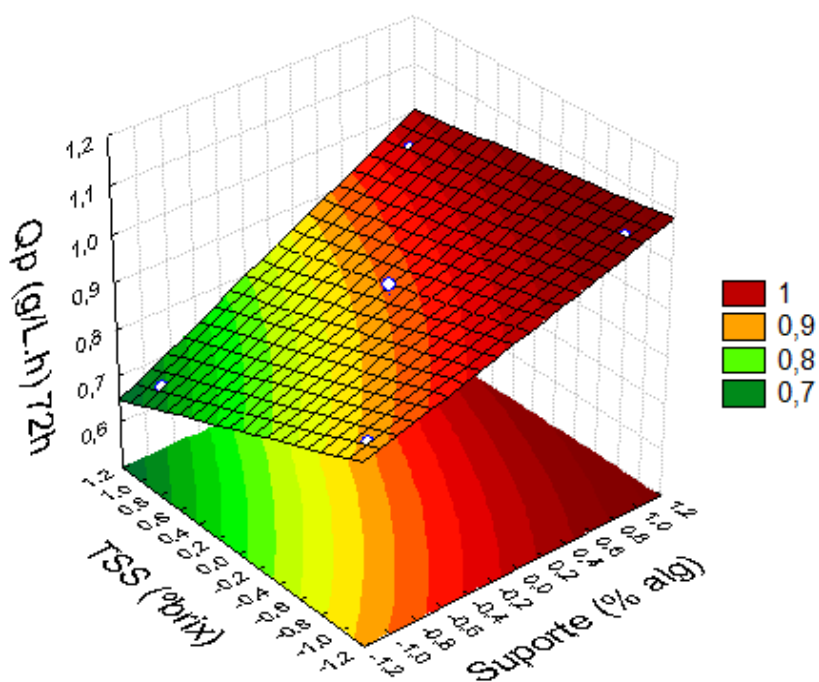


Figura 16: Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto para a produtividade volumétrica em etanol do mosto de mel suplementado, após 72 h de fermentação por *S. bayanus* imobilizada em esferas de alginato de cálcio e diferentes teores de sólidos solúveis iniciais.

O rendimento em etanol das formulações variou de 0,395 a 0,462 g/g, com máxima conversão de substrato em produto no mosto com esferas com 6% de alginato e teor de sólidos solúveis inicial de 32°Brix. No tempo de 72h de fermentação (Figura 17), os maiores rendimentos foram influenciados apenas pelos efeitos lineares positivos do teor de sólidos solúveis inicial (Tabela 12).

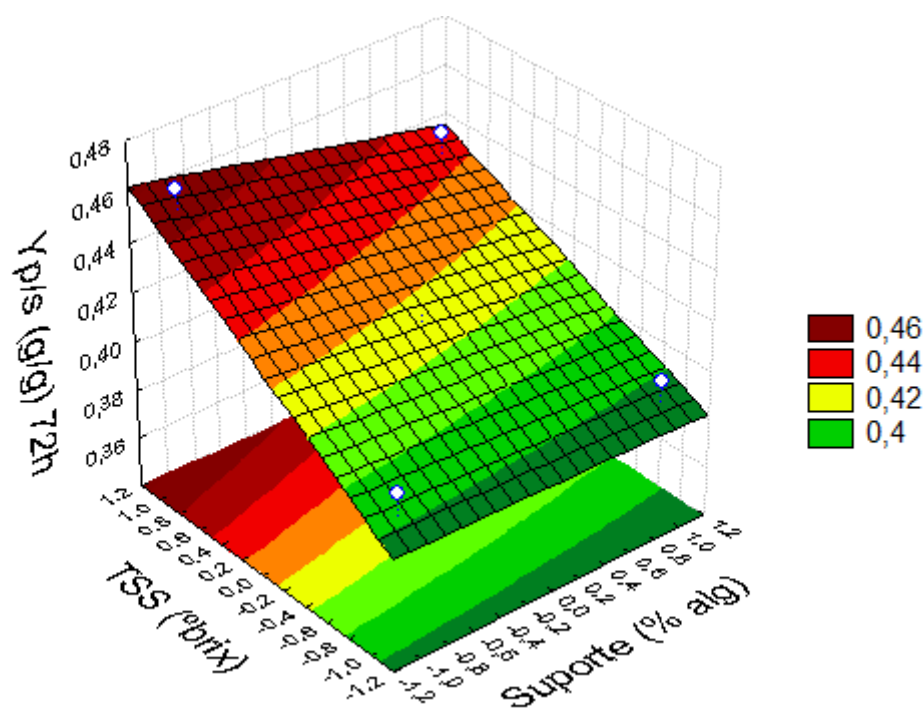


Figura 17: Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto para o rendimento em etanol (Y_p/s) do mosto de mel suplementado, após 72 h de fermentação por *S. bayanus* imobilizada em esferas de alginato de cálcio e diferentes teores de sólidos solúveis inicial.

A eficiência fermentativa máxima após 72 h, assim como o rendimento, foi verificada na fermentação do mosto utilizando leveduras imobilizadas em esferas com 6% de alginato de sódio e teor de sólidos solúveis inicial de 32°Brix, com valor 90.34% (Tabela 11). O teor de sólidos solúveis inicial do mosto influenciou positivamente a resposta estudada (Figura 18).

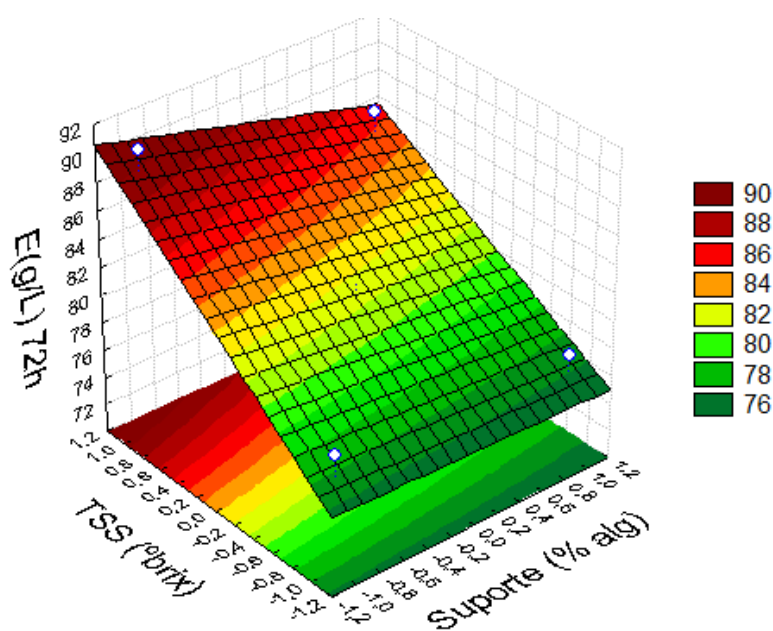


Figura 18: Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto para a eficiência da fermentação do mosto de mel suplementado, após 72h de fermentação por *S. bayanus* imobilizada em esferas de alginato de cálcio e diferentes teores de sólidos solúveis inicial.

5.4. FERMENTAÇÃO DE HIDROMEL COM IMOBILIZAÇÃO DE LEVEDURA *Saccharomyces bayanus* EM SUPORTE DE FIBRA DE JACA

A fibra de jaca, obtida a partir do eixo central do fruto (pedúnculo), é um material lignocelulósico, subproduto agrícola caracterizado por ser biodegradável e apresentar características físicas que a caracterizam como um potencial suporte para a imobilização de células. A análise de microscopia eletrônica de varredura (Figura 19), demonstra cortes de uma seção transversal do suporte de fibra de jaca.

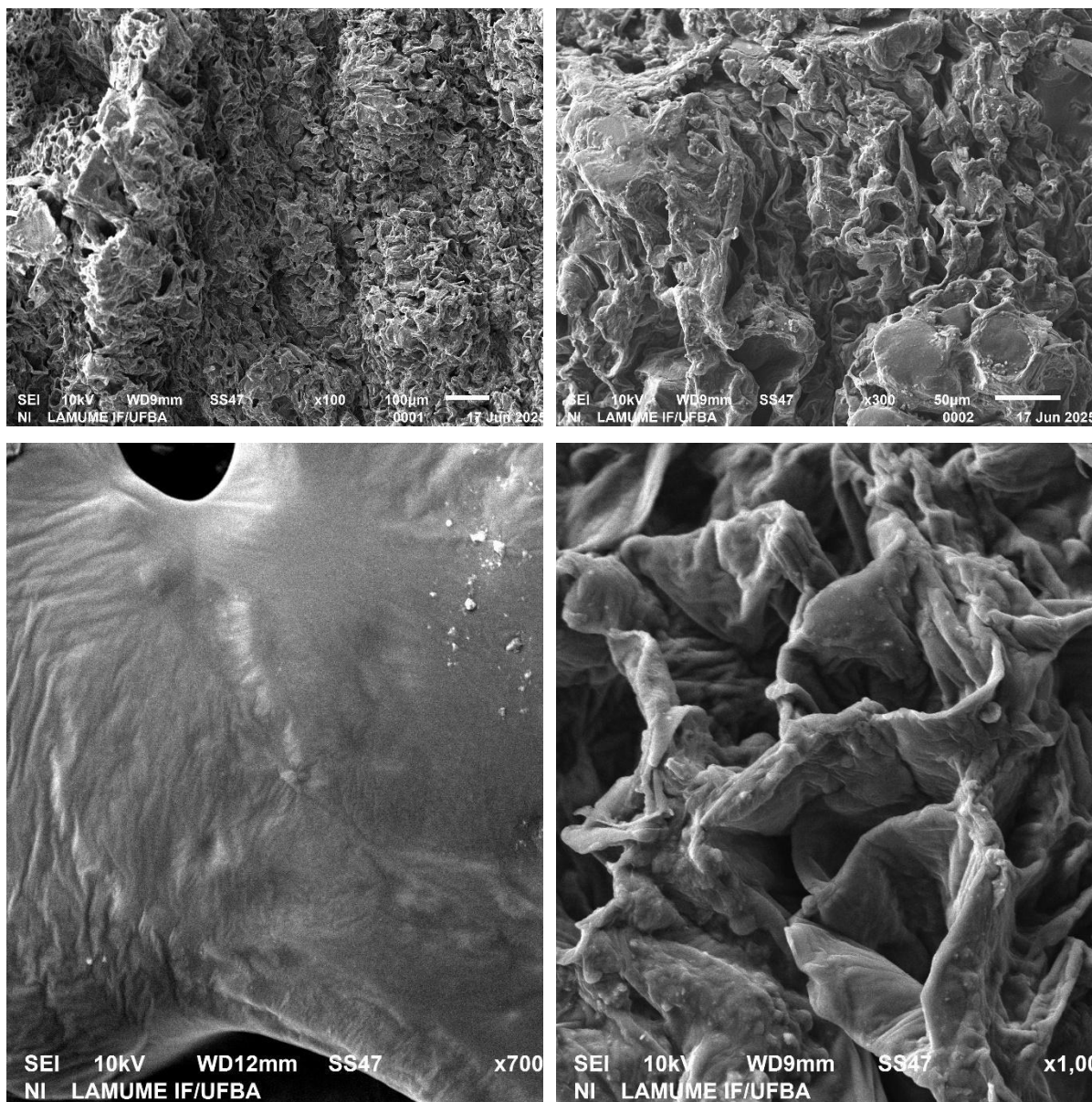


Figura 19: Corte transversal do suporte de fibra de jaca in natura, antes do processo fermentativo.

Do ponto de vista estrutural, o eixo central da jaca é altamente fibroso (Figura 19) composto por uma matriz rica em celulose, hemicelulose e lignina, proporcionando estabilidade mecânica e resistência quando utilizado como suporte para células. Sua estrutura fibrosa e porosa confere características físico-químicas favoráveis à aderência celular, como grande área superficial de fixação, surgindo como uma alternativa sustentável e de baixo custo frente a suportes inorgânicos convencionais. A Figura 20 apresenta o corte transversal do suporte de fibra de jaca imobilizado com *S. Bayanus*, submetido ao processo fermentativo durante 120 h.

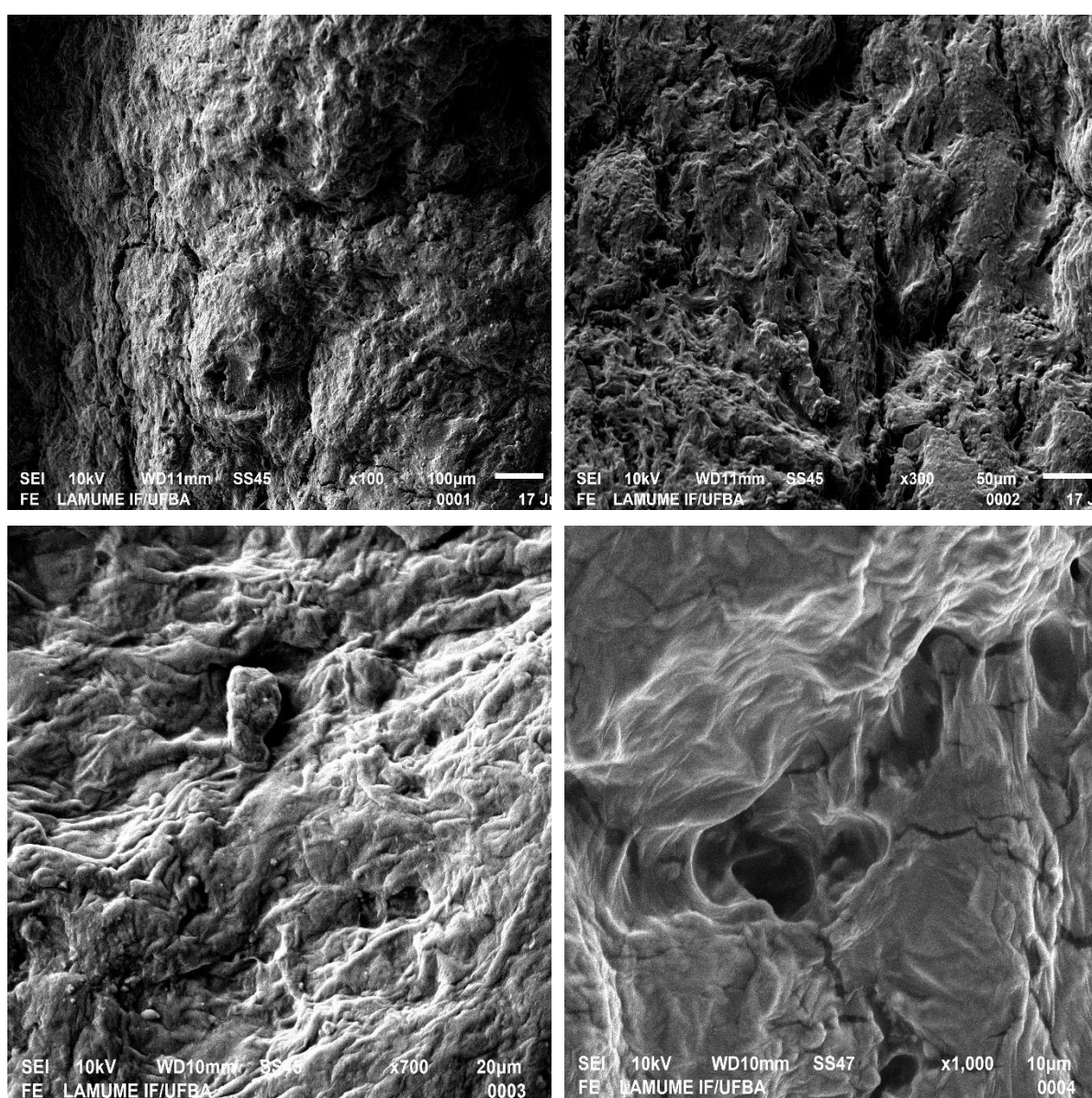
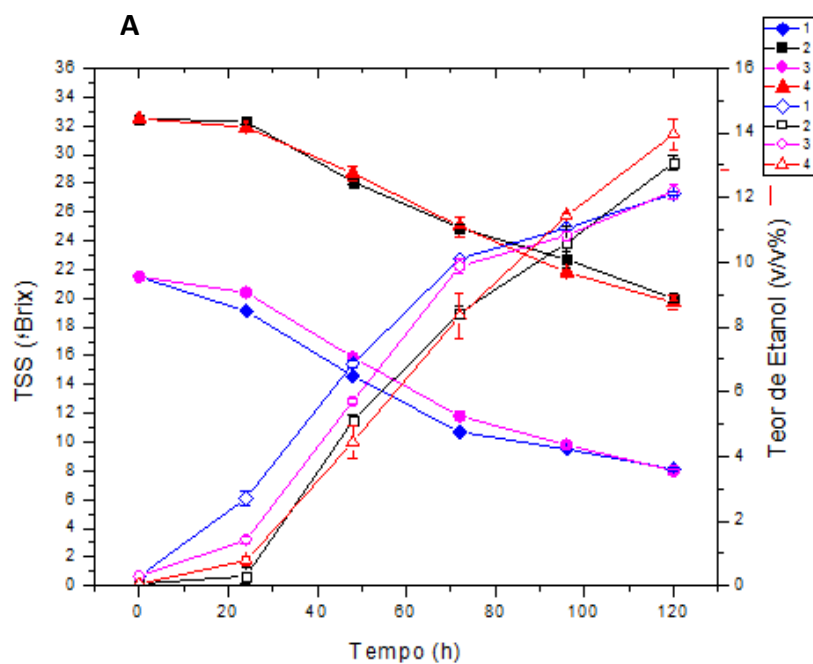


Figura 20: Corte transversal do suporte de fibra de jaca in natura, antes do processo fermentativo.

A presença de poros e cavidades ao longo da estrutura fibrosa do suporte contribui significativamente para o aumento da área superficial disponível, possibilitando maior adsorção de carga celular e melhor troca de nutrientes durante o processo fermentativo. É possível verificar na Figura 20 a modificação da superfície após a aderência celular e fermentação, com o preenchimento das cavidades porosas e maior densidade estrutural, demonstrando que o eixo central da jaca é um material biocompatível, promissor e adequado à imobilização celular.

Os perfis dos teores de sólidos solúveis totais (°Brix) e concentração de etanol (%v/v) durante as 120h de fermentação do mosto de mel suplementado com polpa de jaca, com leveduras imobilizadas em suporte de fibra de jaca e diferentes teores de sólidos solúveis iniciais é apresentado na Figura 21.



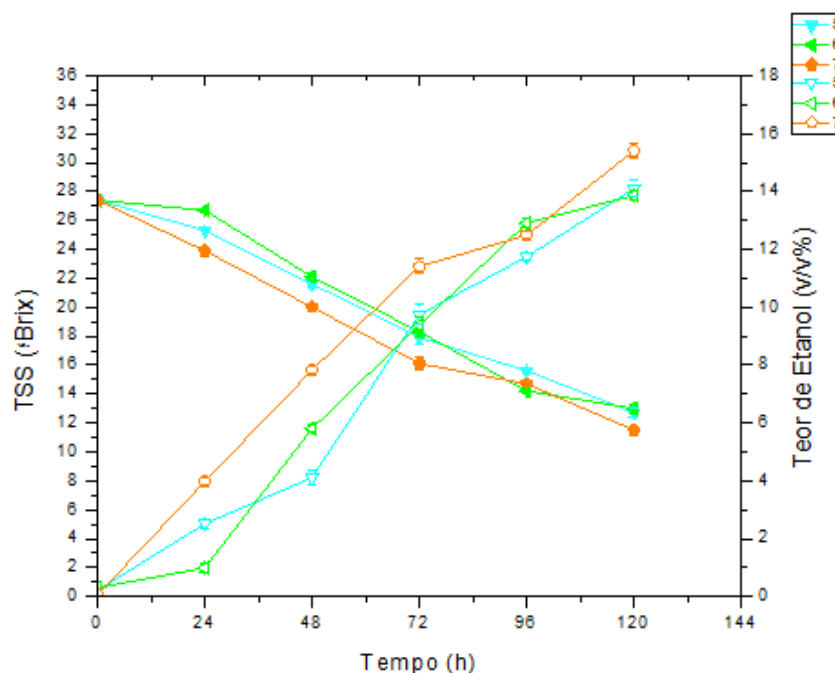


Figura 21: Perfis dos teores de sólidos solúveis totais (TSS, °Brix) e concentração de etanol (%v/v) durante as 120h de fermentação do mosto de mel por *S. bayanus* imobilizadas em fibra de jaca e diferentes teores de sólidos solúveis iniciais, seguindo um planejamento fatorial 2^2 , com 4 formulações e 3 repetições no ponto central (A: pontos 1,2,3, 4 e; B: pontos centrais 5, 6 e 7).

O teor de sólidos solúveis dos mostos apresentou uma boa taxa de redução desde as primeiras horas de fermentação com leveduras imobilizadas em fibra de jaca. Assim, em todas as condições estudadas, houve um bom consumo do substrato que foi direcionado à conversão eficiente em etanol (12,1 a 15 %v/v), levando a uma otimização do processo fermentativo. A concentração celular nos suportes de fibra de jaca foi determinada, após o final do processo fermentativo, e os valores são mostrados na Figura 22. Observa-se que as maiores taxas de crescimento celular foram observadas nas condições do meio contendo maior teor de sólidos solúveis (32 °Brix) usando suporte com menor e maior volume, nos pontos 2 e 4 do planejamento experimental, com valores de 2,96 e 3,76 g/L de células, respectivamente.

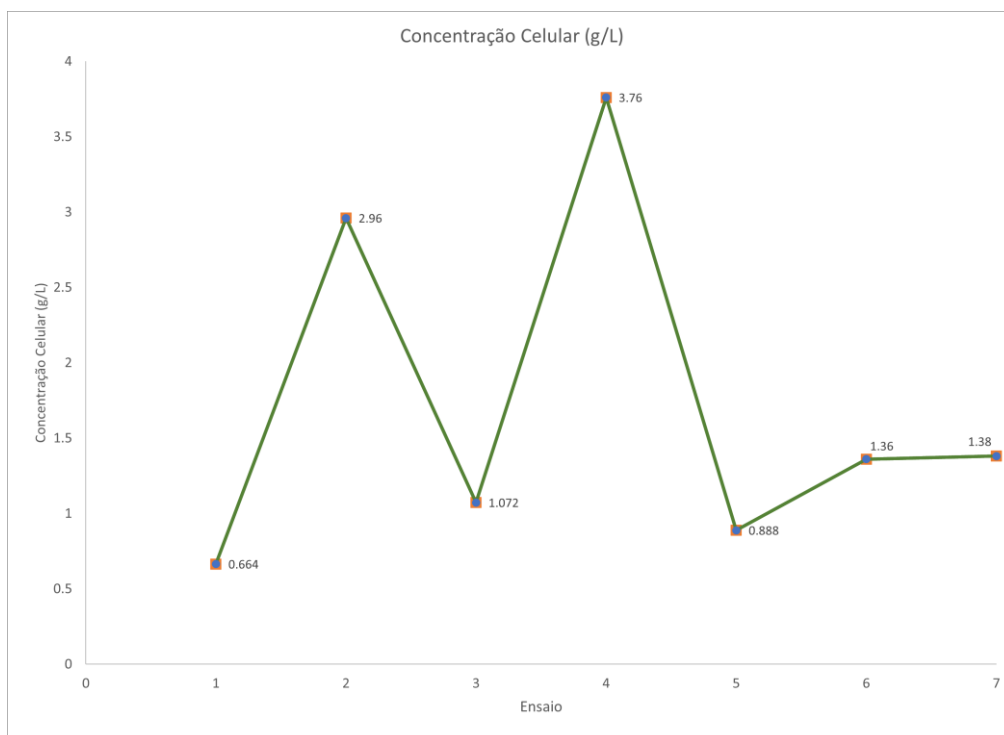


Figura 22: Concentração celular de *S. bayanus* em g/L nos suportes de fibra de jaca após 120h de fermentação.

Os valores de concentração celular obtidos acompanham os resultados da fermentação quando observamos os teores de etanol e produtividade dos ensaios. Os maiores valores de concentração celular no ensaio 4 (3,76 g/L) condizem com os melhores resultados do processo fermentativo, que foram obtidos nesta condição, após 72h. Por outro lado, a menor concentração celular do experimento no ensaio 1 (0,66 g/L) também se relaciona com os menores teores de etanol e produtividade volumétrica.

Após 72h de fermentação, todos os mostos fermentados já apresentavam teor alcoólico acima de 8,3 %v/v (Ponto 4), com máximo de 11,4 %v/v (Ponto 7), logo todas seriam caracterizadas como hidromel. Desta forma, definiu-se o tempo de 72h para realizar a análise estatística do processo fermentativo, em função das respostas produtividade volumétrica (Q_p), $Y_{p/s}$ e eficiência (η) do processo fermentativo.

Os valores de produtividade volumétrica (Q_p), fator de conversão de substrato em produto ($Y_{p/s}$) e eficiência da fermentação (η) na produção de hidromel por leveduras imobilizadas em suporte de fibra de jaca em cada condição experimental são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13: Produtividade volumétrica em etanol (Qp), fator de conversão de substrato em etanol (Yp/s) e eficiência da fermentação (η) nos ensaios do planejamento fatorial 2^2 para produção de hidromel com *S. bayanus* imobilizadas em suporte de fibra de jaca, após 72h de fermentação.

Ensaio	Variáveis Dependentes		
	Qp (g/L.h)	Yp/s (g/g)	η (%)
1	1,131	0,372	73,513
2	1,361	0,357	69,892
3	1,156	0,374	73,566
4	1,351	0,357	69,908
5	1,337	0,361	71,620
6	1,303	0,359	70,768
7	1,337	0,369	72,627

Os coeficientes dos modelos lineares para as respostas produtividade volumétrica, fator de conversão de substrato em produto e eficiência fermentativa com os coeficientes de determinação (R^2) que descrevem os modelos propostos são mostrados na Tabela 14.

Tabela 14: Coeficientes dos modelos lineares que descrevem a produtividade volumétrica (Qp), Fator de conversão de substrato em produto (Yp/s) e eficiência (η) na produção de hidromel por *S. bayanus* imobilizadas em suporte de fibra de jaca.

Coeficiente 1	Produtividade Volumétrica (Qp) (g/L.h) ²	Fator de conversão de substrato em produto (Yp/s) (g/g) ²	Eficiência fermentativa (η) (%) ²
b ₀	1,2822*	0,3664*	71,6942*
b ₁	0,0037	0,000	0,015
b ₂	0,1062*	-0,0095*	-1,82*
b ₁₂	-0,0087	-0,000	-0,01

R ²	0,8103	0,996	0,9987
----------------	--------	-------	--------

¹Subscrito: 1= Suporte de Fibra de Jaca; 2= Teor de Sólidos solúveis inicial.

²*Significante ao nível de 95% de confiança ($p < 0.05$).

Observou-se que houve um relevante consumo de substrato (8,7 e 20,1°Brix) e formação de etanol (10,4 a 12,6 %v/v) nas primeiras 72h de fermentação, como resultado da imobilização celular em fibra de jaca. A análise estatística demonstrou que com o uso da imobilização celular para produção de hidromel, após 72h de fermentação, todos os coeficientes de determinação (R^2) das respostas estudadas foram satisfatórios, com valores superiores a 0,81.

Os modelos que descrevem as variáveis dependentes do processo fermentativo produtividade volumétrica, fator de conversão de substrato em produto e eficiência apresentaram coeficientes de determinação (R^2) iguais a 0,8103; 0,996 e 0,9887, respectivamente. Os valores obtidos demonstram que os modelos propostos (Tabela 14) explicam adequadamente as variáveis estudadas em função das variáveis independentes (>81%). Todos os parâmetros fermentativos avaliados foram influenciados ao nível de 95% de confiança pelo teor de sólidos solúveis inicial do mosto. Para o suporte de fibra de jaca, sua dimensão não apresentou influência significativa sobre as respostas estudadas.

As Figuras 23, 24 e 25 mostram as superfícies de resposta para as variáveis produtividade, conversão de substrato em produto e eficiência do processo fermentativo de produção de hidromel, respectivamente, utilizando polpa de jaca como suplemento e leveduras imobilizadas em suporte de fibra de jaca, após 72 h de processo.

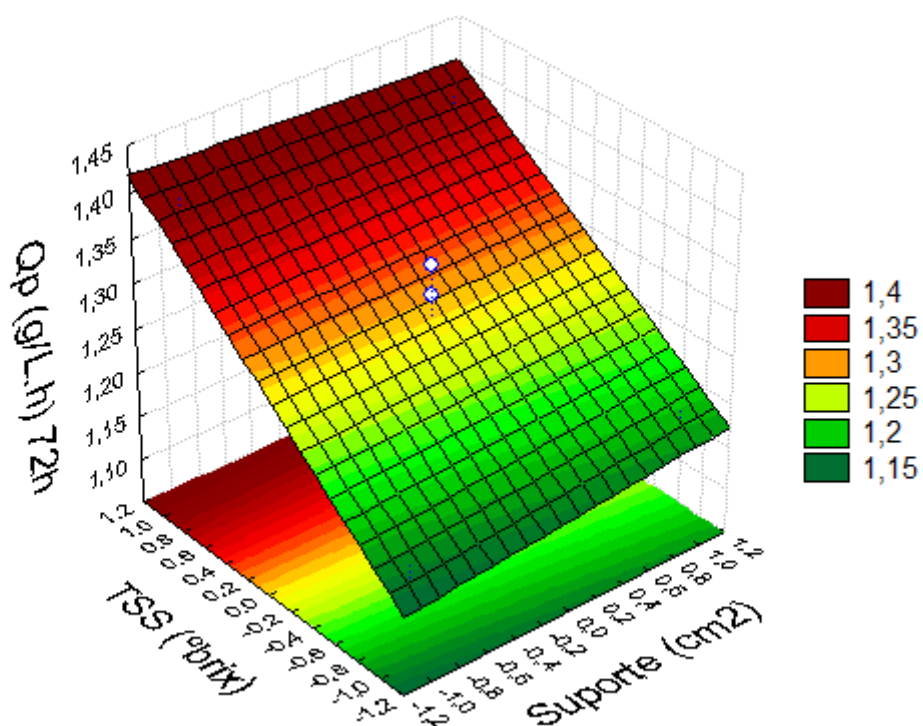


Figura 23: Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto para a produtividade volumétrica em etanol do mosto de mel suplementado, após 72h de fermentação por *S. bayanus* imobilizada em suporte de fibra de jaca e diferentes teores de sólidos solúveis iniciais.

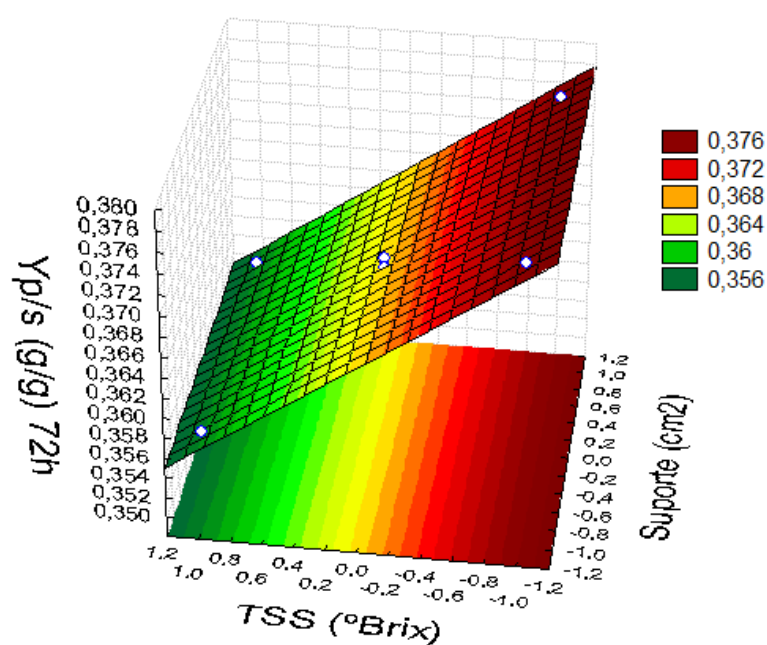


Figura 24: Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto para a conversão de substrato em produto do mosto de mel suplementado com jaca, após 72h de fermentação por *S. bayanus* imobilizada em suporte de fibra de jaca e diferentes teores de sólidos solúveis iniciais.

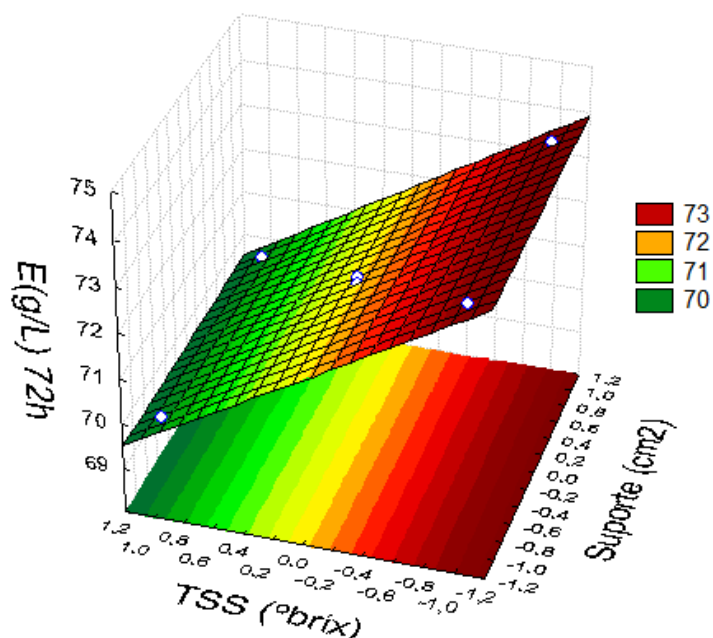


Figura 25: Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto para a Eficiência do mosto de mel suplementado com jaca, após 72h de fermentação por *S. bayanus* imobilizada em suporte de fibra de jaca e diferentes teores de sólidos solúveis iniciais.

Após o tratamento estatístico foram definidas as condições do ponto ótimo e a seguir foi realizada uma fermentação com 3 ciclos de reaproveitamento do suporte de fibra de jaca para avaliar a viabilidade do processo. No mosto, foram definidas as variáveis X_1 , teor de sólidos solúveis inicial, de 32° Brix e X_2 , suporte de fibra de jaca, de 1.5 cm², e suplementação com 30% de polpa de jaca hidrolisada e 5 g/L de extrato de farelo de arroz. Com estes parâmetros observou-se uma excelente produtividade de etanol (1,156 a 1,361 g/L.h) nas primeiras 72h de processo fermentativo.

Os parâmetros fermentativos dos 3 ciclos de produção de hidromel, com reaproveitamento de células imobilizadas em suporte de fibra de jaca são mostrados nas tabelas 15, 16 e 17.

Tabela 15: Primeiro ciclo de fermentação para avaliação do reuso de suporte de fibra de jaca com imobilização de *S. bayanus* para produção de hidromel.

Ciclo 1					
Tempo (h)	TSS (°Brix)	Etanol (%v/v)	Yp/s (g/g)	Produtividade (g/L.h)	Eficiência (%)
0	31,9	0,082			
24	27,8	4,718	0,359	1,533	70,176
48	25,6	7,077	0,358	1,150	70,119
72	20,9	11,639	0,357	1,261	69,956
96	19,3	13,074	0,357	1,062	69,896

Tabela 16: Segundo ciclo de fermentação para avaliação do reuso de suporte de fibra de jaca com imobilização de *S. bayanus* para produção de hidromel.

Ciclo 2					
Tempo (h)	TSS (°Brix)	Etanol (%v/v)	Yp/s (g/g)	Produtividade (g/L.h)	Eficiência (%)
0	32,0	0,078			
24	28,7	3,881	0,358	1,261	70,084
48	26,1	6,635	0,358	1,078	70,095
72	21,7	11,007	0,357	1,192	69,926
96	20,1	12,440	0,357	1,011	69,897

Tabela 17: Terceiro ciclo de fermentação para avaliação do reuso de suporte de fibra de jaca com imobilização de *S. bayanus* para produção de hidromel.

Ciclo 3					
Tempo (h)	TSS (°Brix)	Etanol (%v/v)	Yp/s (g/g)	Produtividade (g/L.h)	Eficiência (%)
0	31,90	0,082			
24	27,80	4,755	0,359	1,545	70,181
48	25,20	7,488	0,358	1,217	70,100
72	23,70	8,987	0,358	0,974	70,048
96	21,50	11,088	0,358	0,901	69,979

Todas as três fermentações com reaproveitamento de suporte de fibra de jaca apresentaram bons resultados, com consumo de substrato (entre 0,358 e 0,359 g/g), elevada produção de etanol (11,08 a 13,07 %v/v) (Figura 26) e eficiência com pouca variabilidade (69 a 70%) em todos os ciclos.

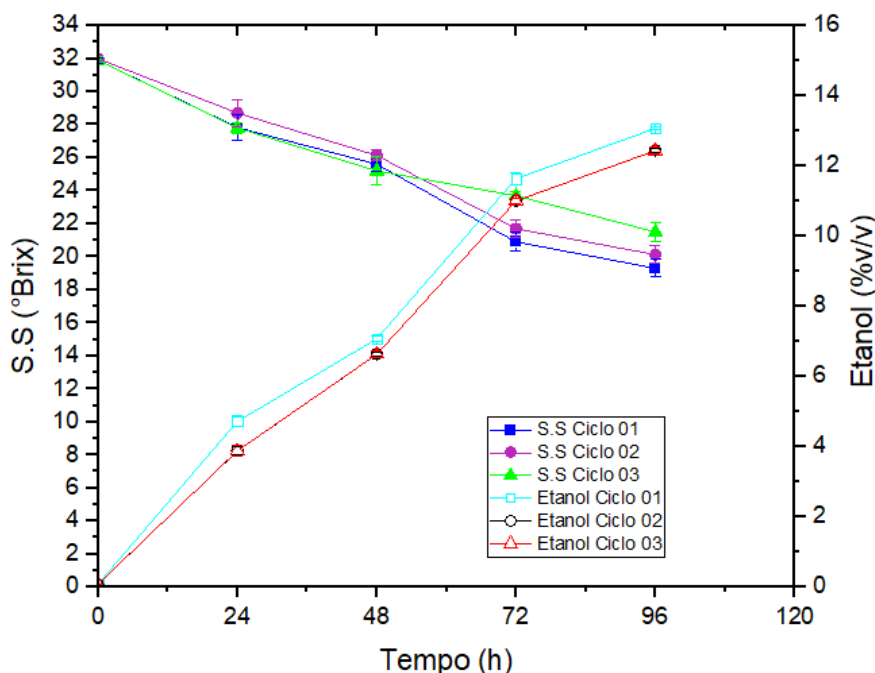


Figura 26: Perfis dos teores de sólidos solúveis totais (SS, °Brix) e concentração de etanol (%v/v) durante 3 ciclos de fermentação do mosto de mel suplementado com 30% de polpa de jaca hidrolisada por *S. bayanus* imobilizadas em fibra de jaca.

A fibra de jaca apresenta boa capacidade de absorção de umidade, sendo um material poroso e maleável, o que sugere alta capacidade de aprisionar células na imobilização. Os resultados dos diferentes ciclos de fermentação evidenciam que o suporte de fibra de jaca tem biocompatibilidade para o processo fermentativo, eficiência no reuso em múltiplos ciclos, com pouca variabilidade e resultados satisfatórios na conversão de substrato em produto, produtividade de etanol e eficiência fermentativa.

Este suporte também garante facilidade de recuperação do inóculo e otimização do processo, apresentando boa capacidade de produção de etanol, com teores variando entre 13,07 e 11,08 %v/v no primeiro e último ciclo de produção, respectivamente. Observa-se que a produtividade volumétrica em etanol decresceu ao longo dos ciclos (1,062 para 0,901), o que justifica a ligeira redução teor alcoólico final da bebida após os 5 dias de fermentação no fim do terceiro ciclo (11,08 %v/v).

Pratama *et al.* (2023), avaliando a imobilização em esferas de alginato reforçadas com resíduos de celulose observaram que a taxa de fermentação das esferas de alginato/celulose foi três vezes maior do que a do alginato puro. A maior concentração de bioetanol (aumentando até 114,5 g/L) resultou das esferas com maior concentração de celulose, sendo reaproveitadas em até cinco ciclos fermentativos com boa eficiência. Os resultados demonstram que até 95%

a mais de levedura é efetivamente retida na matriz quando uma pequena quantidade de celulose está presente nas esferas em todas as proporções, indicando que a levedura interage fortemente com a matriz de celulose.

Diversas pesquisas citam a imobilização celular em diferentes suportes naturais, como fibra de coco e colmos de bambu (Santos, 2008), sabugo de milho (Sá, 2003), Crisotila (Monte Alegre; Rigo; Joekes, 2003), colmos de cana de açúcar (Vasconcelos, 1998), alginato reforçado com bucha vegetal (Bangrak; Limtong; Phisalaphong, 2011), entre outros. A Tabela 18 apresenta um comparativo de resultados obtidos na imobilização deste trabalho e de processos fermentativos reportados na literatura, que utilizaram a imobilização de *Saccharomyces cerevisiae* com diferentes substatos para produção de etanol.

Tabela 18: Resultados dos parâmetros fermentativos de pesquisas com imobilização celular em diferentes suportes.

Referência	Suporte	Produtividade			
		Yp/s (g/g)	volumétrica (g/L.h)	Eficiência (%)	Células (g/L)
Este estudo	Alginato de cálcio	0,403 a 0,462	0,682 a 1,047	78,3 e 90	0,55 a 3,43
Este estudo	Fibra de jaca	0,357 a 0,374	1,131 a 1,361	69 e 73	0,66 a 3,76
Nuanpeng <i>et al.</i> (2018)	Alginato e bucha vegetal	0,390 a 0,490	0,75 a 1,79	NA	1,04 a 6,04x10 ⁷
Ariyajaroenwong <i>et al.</i> (2012)	Caule de sorgo	0,470	1,36	NA	NA
Limtong; Phisalaphong, (2011)	Alginato com bucha vegetal	0,430 a 0,450	11,5	47,5	37,3
Rattanapan <i>et al.</i> (2011)	Casulo de seda	0,41	19,0	NA	NA
Santos (2008)	Fibra de coco e colmos de bambu	0,416 e 0,468	2,2 e 2,33	69 e 90	NA
Cordeiro (2008)	Alginato de cálcio	0,281 a 0,491	1,65 a 3,64	NA	53,22 a 118,97

Sá (2003)	Sabugo de milho	NA	NA	71,35	NA
-----------	-----------------	----	----	-------	----

NA = não se aplica.

Santos (2008) fez uso de leveduras imobilizadas em fibra de coco e colmos de bambu na fermentação do mosto de cana de açúcar, e na sua pesquisa realizou o reaproveitamento dos suportes em 91 ciclos fermentativos, obtendo resultados de eficiência entre 69 e 90% e conversão de substrato em produto entre 0,416 e 0,468 g.g⁻¹. Bangrak, Limtong e Phisalaphong (2011) reportam em sua pesquisa que um reator de células imobilizadas em alginato reforçado com bucha vegetal foi operado com sucesso por 30 dias sem qualquer perda na produtividade do etanol, o rendimento médio de conversão foi de 0,43-0,45 g.g⁻¹. Nuanpeng *et al.* (2018), também avaliando a utilização de alginato reforçado com bucha vegetal observaram que a fermentação com as células imobilizadas foi bem sucedida por pelo menos seis lotes consecutivos (360 h) sem qualquer perda de eficiência na produção de etanol, sugerindo sua potencial aplicação na produção industrial.

Neste trabalho, observamos que a fibra de jaca foi reutilizada em 3 ciclos sucessivos de fermentação, sem comprometimento dos parâmetros de processo, mantendo alta produção de etanol. Ariyajaroenwong *et al.* (2012) estudando a fermentação de suco de sorgo doce, reportaram que células de levedura imobilizadas no caule de sorgo, nas dimensões 6×6×6 mm³, poderiam ser reutilizadas por pelo menos oito lotes sucessivos de fermentação sem qualquer perda de eficiência na produção de etanol. Sá (2003), imobilizando *Saccharomyces cerevisiae* em sabugo de milho para produção de etanol, demonstrou a viabilidade do sabugo de milho como suporte para imobilização, embora tenha encontrado limitações na estabilidade celular após muitos ciclos de fermentação com reaproveitamento do suporte (94 ciclos no total).

5.5. PRODUÇÃO DA AGUARDENTE

A Figura 27 mostra os perfis de consumo de substrato e produção de etanol da produção de hidromel em escala piloto, utilizando leveduras livres e leveduras imobilizadas em suporte de fibra de jaca. A tabela 20 mostra um comparativo dos parâmetros de ambas condições após 96h de processo fermentativo.

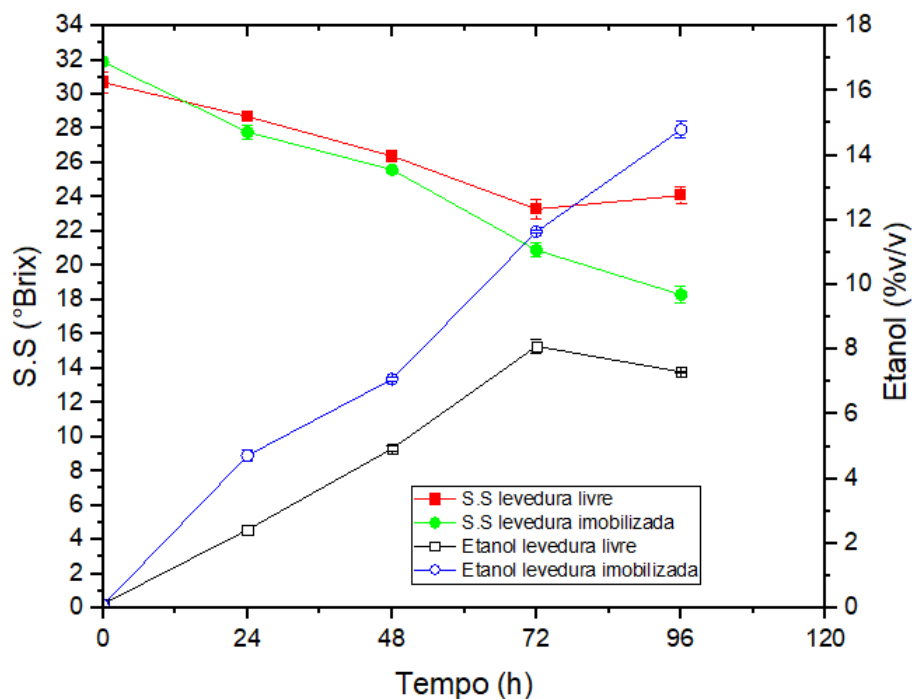


Figura 27: Perfis dos teores de sólidos solúveis totais (SS, °Brix) e concentração de etanol (%v/v) da fermentação do mosto de mel suplementado com polpa de jaca hidrolisada por *S. bayanus* livre e imobilizada em fibra de jaca.

O processo de produção em escala piloto com leveduras imobilizadas em fibra de jaca demonstrou boa reprodutibilidade, alta produção de etanol (Figura 27) e foi mais eficiente em relação ao processo utilizando leveduras livres (Tabela 19). O consumo de substrato e decréscimo do teor de sólidos solúveis (°Brix) foi mais acelerado com as leveduras imobilizadas,

Tabela 19: Parâmetros da produção de hidromel em escala piloto com *S. bayanus* livres e imobilizadas em suporte de fibra de jaca após 96h de fermentação.

Parâmetro Fermentativo	Leveduras livres	Leveduras Imobilizadas em fibra de jaca
Etanol (%v/v)	7,304 ± 0.03	14,792 ± 0.24
Teor de sólidos solúveis (°Brix)	24,1± 0.51	18,3± 0.26
Yp/s (g/g)	0,360 ± 0.24	0,355 ± 0.32
Produtividade volumétrica (g/L.h)	0,593 ± 0.05	1,133 ± 0.01
Eficiência (%)	70,462 ± 0.08	69,504 ± 0.17

O teor de etanol obtido com leveduras imobilizadas em suporte de fibra de jaca (14,79 %v/v) foi 50,6% mais elevado do que o teor de etanol da bebida obtida com células livres no reator (7,304 %v/v). Num estudo de imobilização em casulo de seda, Rattanapan *et al.* (2011) reportaram que a concentração de etanol produzida pelas células imobilizadas foi 11,5% maior do que a produzida pelas células livres.

O consumo de substrato, consequentemente, também apresentou redução mais acentuada após o final da fermentação, com queda de 42,4% na fermentação com leveduras imobilizadas (18,3 °Brix) e apenas 21,5% com as leveduras livres (24,1 °Brix). Kovalski (2019), em sua pesquisa avaliando a fermentação com leveduras livres e imobilizadas em esferas de alginato na produção de sidra, também verificou um decréscimo do teor de sólidos solúveis (°Brix) maior na fermentação utilizando as leveduras imobilizadas do que utilizando leveduras livres no meio, constatando que houve um maior consumo do substrato com para a fermentação utilizando as leveduras imobilizadas no suporte de alginato de cálcio.

Lee *et al.* (2011) numa pesquisa para produção de bioetanol também reportaram que leveduras imobilizadas em esferas de alginato produziram um rendimento de etanol mais alto e mais rapidamente do que células de levedura livres sob as mesmas condições de fermentação.

Após a fermentação, o hidromel obtido (Figura 28B) foi destilado em alambique de cobre (Figura 28A). A fração coração da aguardente foi acondicionada em um barril de carvalho com volume de 2L e seguiu no processo de envelhecimento durante 150 dias.

A



B



Figura 27: Alambique de cobre (A) utilizado para Destilação do hidromel suplementado com polpa de jaca (B).

As reações químicas que ocorrem durante o envelhecimento de bebidas favorecem a formação de compostos que influenciam sensorialmente a cor, o odor e o sabor. Os principais compostos extraídos da madeira dos barris pelos destilados são: óleos voláteis, substâncias tânicas, açúcares, glicerol e ácidos orgânicos não voláteis, que modificam o aroma, o sabor e a coloração (NISHIMURA; MATSUYAMA, 1989).

As aguardentes, fração coração e cabeça antes e após o envelhecimento foram submetidas a análise de cromatografia líquida de alta eficiência. Os valores das propriedades físico-químicas estão descritos na Tabela 20.

Tabela 20: Caracterização das frações da aguardente obtidas no processo de destilação e após o envelhecimento da fração coração.

Análise	Cabeça	Coração	Envelhecida
Etanol (°GL)	55 ± 0.34	39 ± 0.17	36 ± 0.25
Acidez volátil, em ác. acético (mg.100mL ⁻¹)	27,00 ± 0.02	34,00 ± 0.01	58,00 ± 0.10
Metanol (mg. 100ml ⁻¹)	94,00 ± 0.05	46,00 ± 0.13	152,00 ± 0.38
HMF (g/L)	0,07 ± 0.01	0,07 ± 0.02	0,07 ± 0.02
Furfural (g/L)	n.d	n.d	n.d
Ácido fórmico (g/L)	0,00± 0.00	<0,10	<0,10± 0.00
pH	4,3± 0.02	4,15± 0.02	4,09± 0.01
Glicerol	<0,072	<0,072	<0,072
Frutose	n.d	n.d	<0,067
Glicose	n.d	n.d	<0,10
Xilose	n.d	n.d	<0,09
Arabinose	n.d	n.d	<0,09

As reações químicas que ocorrem durante o envelhecimento de bebidas favorecem a formação de compostos que influenciam sensorialmente a cor, o odor e o sabor. Durante a maturação de bebidas destiladas normalmente espera-se uma diminuição do pH e das concentrações de álcool metílico e de álcool etílico, enquanto que há um aumento da acidez, da cor e das concentrações de acetato de etila, aldeído acético, acetona e dos compostos fenólicos (taninos) (Botelho *et al.*, 2020).

O grau alcoólico de uma aguardente armazenada em tonéis de madeira pode sofrer alterações em função da umidade relativa e da temperatura ambiente. Neste trabalho, observa-se uma tendência de redução do grau alcoólico da aguardente (de 40°GL para 36°GL) após o envelhecimento, evidenciando que a evaporação de álcool do destilado foi maior que a de água durante esse período.

A acidez volátil da aguardente na fração coração aumentou 1,7 vezes ao longo do período de envelhecimento, este aumento ocorre devido às reações ocorridas durante a maturação. Miranda *et al.* (2008), que obtiveram uma aguardente com acidez inicial de 8,17 mg de ácido acético 100 mL⁻¹ etanol puro, após o final do envelhecimento observaram que a bebida apresentou 83,14 mg de ácido acético 100 mL⁻¹, um aumento de 10 vezes em relação a teor inicial. De acordo com estes autores, esse aumento se deve à reação de oxidação do etanol, a qual contribui para a formação de acetaldeído, que conduz à formação de ácido acético. Além disso, alguns compostos presentes na madeira, tais como ácidos orgânicos não voláteis, componentes secundários, taninos e compostos fenólicos, favorecem o aumento da acidez da aguardente em envelhecimento.

Durante o envelhecimento observou-se a alteração da cor da aguardente, para um tom mais amarelado (Figura 28), devido à interação com os compostos da madeira. Os taninos são os maiores responsáveis pelo escurecimento ou intensificação da cor amarelo-alaranjado em bebidas sob maturação em barris de madeira (Singleton, 1995).

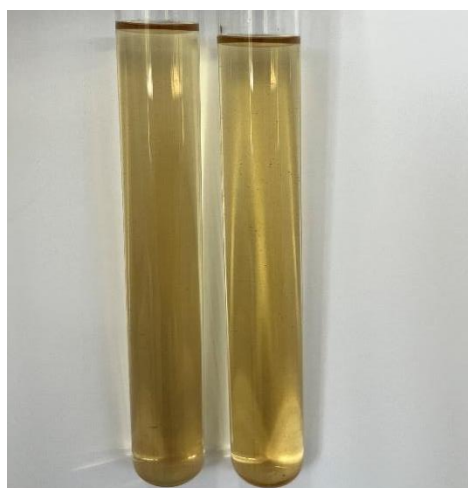
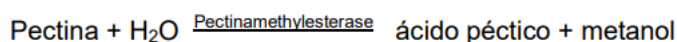


Figura 28: Aguardente após processo de envelhecimento em barril de carvalho durante 150 dias.

De acordo com Alvarenga (2011) o alto teor de metanol encontrado nas aguardentes de frutas é um aspecto relevante. Nestes destilados, o metanol é resultante da hidrólise enzimática (pela pectina metilesterase – EC 3.1.1.11) da pectina presente nas frutas conforme mostrado na seguinte reação (Hang; Woodams, 2008):



O álcool metílico em bebidas destiladas tem origem na hidrólise de matérias pécticas durante a fermentação. De acordo com Reche (2006) durante a fermentação do mosto, as

moléculas de metanol podem ser liberadas através de reação de hidrólise (ácida e/ou enzimática). A concentração de metanol é aumentada quando se adiciona sucos de frutas ricas em pectina ao processo de fermentação

A jaca é uma fruta rica em substâncias pécticas e quando submetida à hidrólise enzimática este componente é degradado em outras moléculas, como ácido galacturônico e açúcares. O tratamento enzimático das paredes celulares de frutas reduz a viscosidade do suco, fator desejável para o processo fermentativo e melhora o metabolismo das leveduras, mas também influencia diretamente na formação de metanol na bebida. A utilização da hidrólise de polpa de frutas com complexos enzimáticos como a Viscozyme L (que apresenta atividade de pectinase, celulase, hemicelulase e xilanase) aumenta o rendimento da extração do suco, com aspecto mais fluido, menos viscoso, o que acarreta em um maior rendimento em etanol na fermentação. Por outro lado, o uso de enzimas pectinolíticas em processos fermentativos pode ocasionar a maior liberação de metanol durante o processamento (Alvarenga, 2011).

Não há nenhum regulamento técnico vigente no Brasil que estabeleça parâmetros de identidade e qualidade para obtenção de aguardente utilizando a composição de mel, uma matéria-prima de origem animal, e polpa de fruta, uma matéria-prima de origem vegetal, como insumos na obtenção do vinho base. Atualmente, para fins regulatórios, são consideradas as seguintes classificações: aguardente composta, que é definida como resultante da adição na aguardente ou no destilado alcoólico simples, de substâncias de origem vegetal ou animal, incluindo o mel (Brasil, 2008), bem como aguardente de melaço, de cereal, de vegetal, de rapadura, de melado e aguardente de fruta (Brasil, 2011).

Nesta pesquisa, para fins comparativos com os padrões estabelecidos na legislação, considera-se a aguardente obtida definida como uma aguardente de fruta devido à sua composição contendo 30% de polpa de jaca hidrolisada. De acordo com a Instrução Normativa nº 15 de 31/03/2011 (Brasil, 2011), que estabelece a complementação dos padrões de identidade e qualidade para aguardentes de fruta, na aguardente a concentração de álcool metílico não deverá ser superior a 20 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro, salvo algumas exceções, como para a aguardente de fruta, onde concentração de álcool metílico não deverá ser superior a 400 mg.100 mL⁻¹. Para aguardentes de frutas, o limite é superior ao de cana-de-açúcar, pois a formação de metanol é acentuada durante a fermentação de sucos ou polpas de frutas, que geralmente são ricas em pectina (Mendonça *et al.*, 2014).

O teor de metanol na aguardente obtida com uso de polpa de jaca hidrolisada permaneceu dentro do limite permitido pela legislação, com valores entre 46 ± 0.13 e 152 ± 0.38 mg.100 mL⁻¹ de álcool anidro. Observou-se que, na aguardente envelhecida o teor de metanol foi

superior, com aumento de 3,3 vezes da concentração após 150 dias de maturação em barril de carvalho. Atualmente a legislação brasileira estabelece que é vedado o envelhecimento para as aguardentes de frutas. O aumento do teor de metanol durante o envelhecimento é um aspecto relevante, e que deve ser considerado, uma vez que o metanol é um componente altamente tóxico e que pode trazer sérios riscos à saúde do consumidor.

Na literatura, Alves et al. (2008) em aguardente de goiaba obteve teor de metanol de 62 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro. Os elevados teores de álcool metílico poderiam ser explicados pela ação da pectinase empregada no tratamento enzimático do suco da fruta utilizado como matéria-prima. Lara (2007) e Guimarães Filho (2003) relataram valores elevados desses componentes em aguardente de banana, 410 e 1000 mg.100 mL⁻¹ álcool anidro, respectivamente. Alvarenga (2011), num estudo com uso de hidrólise enzimática para tratamento de polpa de banana e produção de aguardente relata que os teores de metanol encontrados nas polpas que sofreram hidrólise foram superiores aos valores daquelas que não passaram pelo tratamento, sugerindo que a hidrólise enzimática pode ter proporcionado um aumento na formação de metanol. A autora também reporta que polpas que foram hidrolisadas e filtradas apresentaram menor teor de metanol na aguardente.

É essencial controlar a evolução da síntese do metanol em aguardentes durante o processamento, evitando a necessidade de uma redestilação, que modificaria as características aromáticas do destilado (Zocca *et al.*, 2007). Cleto (2000) visando minimizar a concentração de metanol em aguardente de frutas propôs operações como a filtração, centrifugação e clarificação do suco, impedindo o arraste de partículas de pectina para a fermentação. Com estas operações o autor reportou ausência de teor de metanol na aguardente obtida.

De acordo com Venturini Filho e Nogueira (2013), no vinho base existem pequenas proporções (1 a 3%) de substâncias líquidas secundárias, sintetizadas como consequência direta da própria fermentação, tais como os ácidos succínico e acético, glicerina, furfural, álcoois homólogos superiores (amílico, isoamílico, propílico, iso propílico, butílico, isobutílico), aldeído etc. Estas substâncias, mesmo em proporções mínimas, conferem ou alteram as características de sabor e aroma, sendo importantes do ponto de vista de qualidade sensorial da aguardente.

Não foram identificados teores de furfural nas aguardentes analisadas e os teores de HMF não foram significativos, obtendo-se apenas nível de traços, mesmo após o período de envelhecimento. De acordo com Faria *et al.* (2003) estes compostos são formados principalmente durante o processo da destilação do vinho, sendo um produto de cauda em alambiques, superaquecimento ou armazenamento prolongado. A condução inadequada da

temperatura de destilação e a presença de compostos não voláteis no vinho podem apresentar interferência na má qualidade do produto, devido à síntese de furfural. A legislação brasileira prevê um limite máximo do somatório de furfural e hidroximetilfurfural de 5 mg por 100 mL de álcool anidro, logo a aguardente obtida encontra-se dentro dos padrões estabelecidos.

Nas bebidas alcoólicas, como o vinho, o glicerol é sintetizado durante a fermentação, sendo responsável por conferir características sensoriais como corpo e sabor adocicado (Garcia, 2010). Nas aguardentes obtidas não foram observados teores relevantes de glicerol, com apenas traços sendo detectados. A jaca é uma fruta rica em carboidatos, componentes importantes das paredes celulares de vegetais. A hidrólise enzimática utilizando Viscozyme L, um complexo multienzimático, contribuiu para a quebra da pectina, celulose, hemicelulose e outros carboidratos presentes na polpa de jaca em açúcares simples. Nas aguardentes analisadas não houve detecção significativa destes açúcares redutores, que foram utilizados como substrato para o metabolismo das leveduras durante o processo fermentativo.

6. CONCLUSÃO

É possível desenvolver uma tecnologia para produção de aguardente suplementada com polpa de jaca hidrolisada e utilizando suporte de fibra de jaca na imobilização de leveduras no processo fermentativo. As matérias-primas utilizadas apresentam características físico-químicas adequadas para uso na produção de hidromel. No tratamento enzimático da polpa de jaca mole com Viscozyme L, os efeitos do tempo, temperatura e concentração enzimática e suas interações, foram significativos sobre a resposta viscosidade.

Os estudos de imobilização de *Saccharomyces bayanus* em alginato de cálcio apresentam resultados promissores para produção de hidromel, com otimização do processo fermentativo e facilidade de recuperação do inóculo. Para este suporte, a melhor condição experimental apresentou-se com uso de esferas com concentração de 4% e 6% de alginato de sódio, que apresentaram melhor gelificação, estrutura, resistência mecânica e crescimento celular. O teor de alginato de sódio foi significativo apenas sobre a resposta de produtividade volumétrica em etanol, que foi positivamente influenciada pelos efeitos lineares desta variável independente. Enquanto o teor de sólidos solúveis influenciou todas as respostas estudadas.

Na imobilização celular em fibra de jaca, em todas as condições estudadas, houve um bom consumo do substrato que foi direcionado à conversão eficiente em etanol, levando a uma otimização do processo fermentativo. Na análise estatística, todos os parâmetros fermentativos avaliados foram influenciados significativamente pelos efeitos lineares do teor de sólidos

solúveis inicial do mosto. O tamanho do suporte (área superficial) não teve influência sobre as variáveis dependentes avaliadas;

As condições ótimas de processo para produção em escala ampliada foram definidas após análise estatística, com as variáveis X_1 , teor de sólidos solúveis inicial, de 32° Brix e X_2 , suporte de fibra de jaca, de 1.5 cm². A imobilização de *S. bayanus* em suporte de fibra de jaca, de 1,5 cm², possibilitou o reaproveitamento do inóculo durante 3 ciclos de produção de hidromel, de 96h cada, totalizando 288h de fermentação, sem perda de eficiência. O hidromel obtido em todos os ciclos apresentou teor de etanol, conversão de substrato em produto, produtividade volumétrica e eficiência do processo com pouca variabilidade, configurando o reuso do suporte como promissor.

A produção de hidromel em escala piloto com leveduras livres e imobilizadas no suporte de fibra de jaca, demonstrou que o processo de produção com *S. bayanus* imobilizada tem boa reprodutibilidade, consumo de substrato e decréscimo do teor de sólidos solúveis (°Brix) mais acelerado, com maior produção de etanol em relação ao processo utilizando leveduras livres;

O suporte de fibra de jaca é um material biocompatível e naturalmente abundante em regiões tropicais, o que o qualifica como uma opção viável para processos industriais sustentáveis. Devido à sua composição lignocelulósica, porosidade, boa estrutura mecânica, além da compatibilidade com sistemas biológicos, o pedúnculo da jaca configura-se como um suporte eficiente, sustentável e ecologicamente adequado para a imobilização de leveduras em sistemas fermentativos.

A aguardente obtida nesta pesquisa apresentou padrões de identidade e qualidade em conformidade com a legislação vigente para aguardente de frutas. A tecnologia desenvolvida contribui para o desenvolvimento de um produto com valor agregado, promovendo o aproveitamento integral do fruto, alinhado aos princípios da sustentabilidade e da economia circular.

Diante dos resultados promissores alcançados, uma patente do processo de imobilização em fibra de jaca e do desenvolvimento da aguardente de mel suplementada com polpa de jaca hidrolisada foi depositada no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI).

Sugestões para trabalhos futuros: recomenda-se estudar uma metodologia aprofundada para determinar a concentração celular em suporte de fibra de jaca; verificar o uso da fibra de jaca na imobilização de diferentes leveduras e bactérias para outros processos fermentativos; estudo de uma metodologia adequada para aumentar a resistência mecânica das esferas de alginato durante a fermentação; realizar estudo de viabilidade econômica do processo.

REFERÊNCIAS

- ABU-JDAYIL, B.; GHZAWI, A. A. M.; AL-MALAH, K. I. M. *et al.* Heat effect on rheology of light and dark-colored honey. *Journal of Food Engineering*, v.51, p.33-38, 2002.
- ADAMENKO, K.; KAWA-RYGIELSKA, J.; KUCHARSKA, A. Z. PIÓRECKI, N. Characteristics of biologically active compounds in cornelian cherry meads. *Molecules*, v. 23, n. 8, p. 1-13, 2018.
- ALMEIDA, T. B. *Efeito das concentrações de extrato de feijão-caupi (Vigna unguiculata), extrato de gengibre (Zingiber officinale) e polpa de abacaxi (Ananas comosus L. Merrill) na produção de hidromel por Saccharomyces bayanus (Premier Cuvée)*. 2020. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós Graduação em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.
- ALMONACID, S.F. *et al.* A comparative study of stout beer batch fermentation using free and microencapsulated yeasts. *Food Bioprocess Technology*, vol. 5, p. 750–758, 2012.
- ALVARENGA, R. M. *Avaliação de parâmetros da fermentação e da destilação para adequação dos teores de compostos secundários em aguardente de banana*. 2011. 157 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- ALVES, J. G. L. F. TAVARES, L. S.; ANDRADE, C. J.; PEREIRA, G.G.; DUARTE, F.C. CARNEIRO, J.D.S. Desenvolvimento, avaliação qualitativa, rendimento e custo de produção de aguardente de goiaba. *Braz. J. Food Technol.*, p.64-68, 2008.
- AMORIM, T.S.; LOPES, S. DE B.; BISPO, J.A.C.; BONAFE, C.F.S.; DE CARVALHO, G.B.M.; MARTÍNEZ, E.A. Influence of acerola pulp concentration on mead production by *Saccharomyces cerevisiae* AWRI 796. *LWT*, v. 97, p. 561–569, 2018.
- ANJOS, O.; FRAZÃO, D.; CALDEIRA, I. Physicochemical and Sensorial characterization of honey spirits. *Foods*, v. 6, n. 58, 2017.
- ANUNCIAÇÃO, A.S.; MARTINS, J.A.B. AMORIM, T.S.; DE CARVALHO, G.B.M.; MARTINEZ, E.A. Tamarind pulp (*tamarindus indica* l.) in the production of mead. *Brazilian Journal of Agrotechnology*, v. 7, no. 2, p. 441-445, 2017.
- ANTUNES, C. A. L.; PEDRO, S.; GARCIA, C.; SANTOS, M.; CLARO, V.; CALDEIRA, I.; ANJOS, O. Assessing the viability of enhancing brandy quality through the utilization of a dual-wood blend. *13th National Chromatography Meeting*, 2023.
- AQUARONE, E. *et al.* *Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na Produção de Alimentos*. 1^a. ed. São Paulo. SP: Blucher, v. IV, 2001.
- ARAÚJO, F. G. de. *Comparação das características físico-químicas e antioxidantes de méis de diferentes espécies de abelhas*. 2014. 65f. Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) Mossoró- RN.

ARAÚJO, G.S. *Strategies to improve mead production: type of honey, natural supplements, yeast and temperature*. 2021. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Programa de Pós Graduação em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.

ARAUJO, G.S.; MARTINS, H.F.; SOUZA, S.M.A; MARTINEZ, E.A. Tecnologia Da Produção De Hidromel: Matérias-Primas E Suplementos Inovadores – Parte 1. In: RIBEIRO, MJB (Org.) *Scientific and Technological Studies in Biotechnology*. Aracaju: Backup Books Editora. 2020a, vol. 1; P. 191-213.

ARAÚJO, G.S. *et al.* Mead Production by *Saccharomyces cerevisiae* Saffbrew T-58 and *Saccharomyces bayanus* (Premier Blanc and Premier Cuvée): Effect of Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) Extract Concentration. *Appl Biochem Biotechnology*, 2020b.

ARAÚJO, G.S *et al.* Biochemical, physicochemical and melissopalynological analyses of two multifloral honey types from Brazil and their influence on mead production. *Journal of Apicultural Research*, v.60, n.5, p. 784- 796, 2021. DOI: 10.1080/00218839.2020.1828236

ARAÚJO, Filipe Gomes de. *Comparação das características físico-químicas e antioxidantes de méis de diferentes espécies de abelhas*. 2014. 65 p.Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) Mossoró- RN.

ARIYAJAROENWONG, P. *et al.* Repeated-Batch Ethanol Production from Sweet Sorghum Juice by *Saccharomyces cerevisiae* Immobilized on Sweet Sorghum Stalks. *Energies*, v. 5, p. 1215-1228, 2012. DOI: 10.3390/en5041215.

ASQUIERI, E. R., RABÊLO, A. M. S. SILVA, A. G. M. Fermentado de jaca: estudo das características físico-químicas e sensoriais. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, n. 28, p. 881-887, 2008.

AWULACHEW, M. T. Re-evaluating honey quality: key factors influencing its purity and excellence. *Food and Drug Safety*, v. 2, n. 1, p. 25–39, 2025. DOI: 10.55121/fds.v2i1.315.

BADOTTI, F. *et al.* Two interbreeding populations of *Saccharomyces cerevisiae* strains coexist in cachaça fermentations from Brazil. *FEMS yeast research*, 2014, v.14, n.2, p.289-301, 2014.

BALAMAZE, J.; MUYONGA, J. H. BYARUHANGA, Y. B. Physico-chemical characteristics of selected jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) varieties. *Journal of Food Research*, v.8, p.11-22, 2019.

BALBINO, V.; BINOTTO, E.; SIQUEIRA, E. Apicultura e responsabilidade social: desafios da produção e dificuldades em adotar práticas social e ambientalmente responsáveis. *REAd - Revista Eletrônica de Administração*, v.21, n2, p.348-377, 2015. DOI: 10.1590/1413-2311.0442013.44185

BALIGA, M. S. *et al.* Phytochemistry, nutritional and pharmacological properties of *Artocarpus heterophyllus* Lam (jackfruit): A review. *Food Research International*, v.44, p. 1800- 1811, 2011.

BANGRAK, P.; LIMTONG, S.; PHISALAPHONG, M.. Continuous ethanol production using immobilized yeast cells entrapped in loofa-reinforced alginate carriers. *Brazilian journal of microbiology*, v. 42, p. 676-684, 2011.

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

BARROS, L. B. D. *et al.* Caracterização físico-química de mel produzido por *Apis mellifera* no estado do Rio de Janeiro. *Brasil Ciência Veterinária*, v. 17, n. 3, p. 117-120, 2010.

BASSANI, J. C. *Imobilização de células microbianas em esferas de alginato de cálcio e avaliação da viabilidade celular e estabilidade bioquímica em diferentes condições de armazenamento*. 2018. 75 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2018.

BASSO, A. M.; MOURA, M. F. V. *Jaca: um estudo de sua química e uma resenha de sua história*. 1. ed. Natal: IFRN, 2017.

BATISTA, M. A. *Estudo de imobilização de células de Saccharomyces cerevisiae em gel de alginato de cálcio no processo de fermentação alcoólica*. 2005. 98 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

BENSI, P. S. *et al.* Optimizing conditions for enzymatic extraction of juice from jackfruit (koozha) using response surface methodology. *Eur J Nutr Food Saf*, v.12, p.23-31, 2020.

BERNARDINO, A.V.S. Efeito de diferentes métodos para elaboração de jaca (*artocarpus heterophyllus* Lam.) desidratada impregnada de probióticos *lactobacillus casei* e *lactobacillus acidophilus*. 2020. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

BEZERRA, J.E.F.; DA SILVA JUNIOR, J. F.; DE LIRA JÚNIOR, J. S. Caracterização de germoplasma de jaca em Pernambuco por meio de descritores agronômicos. *Embrapa Tabuleiros Costeiros-Artigo em anais de congresso*. Magistra, Cruz das Almas, v. 25, n. especial, p. 162-163, 2013.

BORGES, S. V.; BONILHA, C. C.; MANCINI, M. C. Jackfruit (*Artocarpus integrifolia*) and pumpkin (*Curcubita moschata*) seeds dehydrated at different temperatures and used as ingredients in cookies. *Brazilian Journal of Food Technology*, v.17, n. 3, p. 317-321, 2006.

BORGES, J. G. *et al.* Qualidade de mel comercializado em feiras livres de Salvador e Petrolina. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, v. 19, n. 3, p. 231-240, 2017.

BOTELHO, G.; ANJOS, O.; ESTEVINHO, L.M.; CALDEIRA, I. Methanol in Grape Derived, Fruit and Honey Spirits: A Critical Review on Source, Quality Control, and Legal Limits. *Processes*, v.8, p. 1609, 2020. DOI: 10.3390/pr8121609.

BRAMONT, W.B., *et al.* Comparação da composição centesimal, mineral e fitoquímica de polpas e cascas de dez diferentes frutas. *Revista Virtual de Química*, 2018, 10.4: 811-823.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 24 de 08 de setembro de 2005. *Aprova o Manual Operacional de Bebidas e Vinagres*. Diário Oficial, Brasília, DF, 20 set. 2005. Seção 1, p. 11.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 65, de 23 de abril de 2008. *Regulamento Técnico para a fixação dos padres de identidade e qualidade para aguardente de fruta*. Diário Oficial, Brasília, DF, 24 abr. 2008. Seção 1, p. 11.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. *Anuário da Cachaça 2024 : ano de referência 2023 / Ministério da Agricultura e Pecuária. Secretaria de Defesa Agropecuária.* – Brasília : MAPA/SDA, 2024. 42 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução normativa nº 15, de 31 de março de 2011*. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade para bebidas alcoólicas destiladas. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2011.

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Brasília, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução normativa nº 13, de 29 de junho de 2005*. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade para Aguardente de cana e cachaça. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000*. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2000.

CARVALHO, C. A. L. *et al.* *Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química*. Cruz das Almas: Universidade Federal da Bahia/SEAGRI-BA, 32 p., 2005.

CHIN, N. L.; SOWNDHARARAJAN, K. (2020). A Review on Analytical Methods for Honey Classification. *Honey Analysis: New Advances and Challenges*, v.55, 2020.

CHITARRINI, G., *et al.* Volatile profile of mead fermenting blossom honey and honeydew honey with or without *Ribes nigrum*. *Molecules*, v.25, n.8, p.1818, 2020.

CORDEIRO, P.T. *Estudo cinético da fermentação alcoólica com células imobilizadas em alginato de cálcio*. 2008. 116 f. Dissertação (Mestrado em Engenharias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2008.

COVIZZI, L. G.; *et al.* Imobilização de células microbianas e suas aplicações biotecnológicas. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*, Londrina, v. 28, n. 2, p. 143-160, jul/dez. 2007.

CRUSCO, S. *Você já experimentou hidromel?*. Disponível em:< <https://elle.com.br/lifestyle/voce-ja-experimentou-hidromel>>. Acesso em: 28 abr. 2021.

CUENCA, M. *et al.* Monitoring mead fermentation by proton transfer reaction mass spectrometry and mid-infrared probe. *European Food Research and Technology* , v. 242, n. 10, p. 1755-1762, 2016.

DAMASCENO, C. N. R. *Análise físico-química do mel de abelhas comercializado no município de ariquemes/Ro*. 2012. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química), UNIFAEMA, Rondônia.

DENG, Z. *et al.* Immobilization of pectinases into calcium alginate microspheres for fruit juice application. *Food Hydrocolloids*, v. 89, p. 691-699, 2019.

DRICHOUTIS, P.; NERANTZES, E.T.; LIOUNI, M. Continuous production of wine in a tower fermentor using entrapped yeast cells in double layer alginate-chitosan beads. *e-J. Sci. Technol.*, v.6, p.51–60, 2007.

DUARTE *et al.* Effect of immobilized cells in calcium alginate beads in alcoholic fermentation. *AMB Express*, v.3, n.31, 2013. doi:10.1186/2191-0855-3-31.

ELAKKIYA, M.; PRABHAKARAN, D.; THIRUMARIMURUGAN, M. Methods of cell immobilization and its applications. *Methods*, v.5, n4, p.211-216, 2016.

ENVIRONMENTAL NUTRITION. *Jackfruit: the jack of all trades*. v. 3, 2016.

ETCHEPARE, M. A. *et al.* Microencapsulação de probióticos pelo método de extrusão associado a interações eletrostática. *Ciência e Natura*, v. 37, p. 75-86, 2015.

FARIA, J. B. *et al.* Cachaça, Pisco e Tequila. In: LEA, A. G. H.; PIGGOTT, J. R. (Eds.). *Fermented beverage production*. 2 ed. New York: Klumer Academic/Plenum Publishers, 2003. cap. 15, p. 335-363.

FELIX, M. D. G. *Análises físico-químicas para determinação da qualidade de méis da Paraíba*. 2019. 40f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

FERRAZ, F.O. Estudos dos parâmetros fermentativos, características físico-químicas e sensoriais de hidromel. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Lorena, 2015.

FERREIRA, W. F. C.; SOUSA, J. C. F. D.; LIMA, N. *Microbiologia*. 1ª. ed. Lisboa, Portugal: Lidel, 2010.

FERNANDES, C. G. P. *et al* (2024). Aproveitamento do mesocarpo da jaca verde. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, v.7, n.2, 2024.

FERNANDES, R. T., ROSA, I. G., & CONTI-SILVA, A. C. Microbiological and physical-chemical characteristics of honeys from the bee *Melipona fasciculata* produced in two regions of Brazil. *Cienc Rural*, v.48, p.1–8, 2018. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180025>.

FRANZ, G. M. *et al.* Análise polínica e compostos fenólicos de mel e própolis do Pantanal, Mato Grosso, Brasil. *Revista Ibero-Americana De Ciências Ambientais*, v. 9, n.1, p.13–25, 2018. <https://doi.org/10.6008/SPC2179-6858.2018.001.0002>

GARCIA, A. C. *Glicerol e açúcares totais em aguardentes de cana de açúcar*. 2010. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo.

GOIS, G.C., *et al.* Composição do mel de *Apis mellifera*: requisitos de qualidade. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.7, n.2, p.137-147, 2013.

GOMES, T. M. C. *Produção de Hidromel: efeito das condições de fermentação*. 74 p. Dissertação (Mestrado). Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, 2010.

GUIMARÃES, R. A. *Produção de aguardente utilizando o sorgo sacarino (Sorghum Bicolor (L.) Moench)*. 2013. 101 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Ouro Preto, UFOP, Ouro Preto.

GUIMARÃES FILHO, O. 2003. 82 p. *Avaliação da produção artesanal da aguardente de banana utilizando Saccharomyces cerevisiae CA-1174*. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Lavras, Lavras.

GUPTA, J.K.; SHARMA, R. Production technology and quality characteristics of mead and fruit-honey wines: A review. *Nat. Prod. Rad.*, v. 8, p. 345–355, 2009.

HANG, Y. D., WOODAMS, E. E. Methanol content of grappa made from New York grape pomace, *Bioresource Technology*, v.99, p.3923–3925, 2008.

HERNÁNDEZ, C. Y.; SERRATO, J. C.; QUICAZAN, M. C. Evaluation of physicochemical and sensory aspects of mead, produced by different nitrogen sources and commercial yeast. *Chemical Engineering Transactions*, v.43, 2015

IBGE. *Produção de Mel de Abelha no Brasil*. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/mel-de-abelha/br>>. Acesso em: março 2025.

IBRAC. Instituto Brasileiro da Cachaça. Disponível em: <<http://www.ibrac.net>>. Acesso em 10 de jul. 2022.

IGLESIAS, A. *et al.* Developments in the fermentation process and quality improvement strategies for mead production. *Molecules*, v.19, n.8, p. 12577–12590, 2014.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 4. ed. São Paulo, Instituto Adolfo Lutz, 2008.

JUNIOR, M. G. *Características físico-químicas e sensoriais de hidroméis produzidos a partir de mel silvestre ou mel de aroeira, utilizando ou não pólen apícola na sua fabricação*. [s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais, 2020.

KASSIM, C. *Vinification continue avec levures immobilisées: Analyse du système et conception du réacteur industriel*. 2012. 201 F. Tese (Doutorado) - Université de Toulouse, Toulouse.

KATAM, K.; BHATTACHARYA, D. Simultaneous treatment of domestic wastewater and biolipid synthesis using immobilized and suspended cultures of microalgae and activated sludge. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, v. 69, p. 295- 303, 2019.

KHAN, A. S. *Perfil da apicultura no Nordeste brasileiro / Ahmad Saeed Khan ... [et al.]*. – Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2014. 246 p.: il. (Série Documentos do ETENE n° 33).

KAWA-RYGIELSKA, J. *et al.* Fruit and herbal meads—Chemical composition and antioxidant properties. *Food Chemistry*, v.283, p. 19-27, 2019.

KITTIPONGPATANA, O. S., KITTIPONGPATANA, N. Preparation and physicochemical properties of modified jackfruit starches. *LWT – Food Science and Technology*, v.44, p. 1766-1773, 2011.

KOGUCHI, M.; SAIGUSA, N.; TERAMOTO, Y. Production and antioxidative activity of mead made from honey and black rice (*Oryza sativa* var. Indica cv. Shiun). *Journal of the Institute of Brewing*, v.115, p.238-242, 2009.

KOVALESKI, G. *Estudo da imobilização celular de Saccharomyces cerevisiae em alginato de cálcio*. 2019. 77f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa.

LACERDA, D.B.C.L. *Estabilidade e qualidade do farelo de arroz sob diferentes tratamentos e aplicação do produto extrusado em biscoito*. 100p. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.

LARA, C. A. *Produção de aguardente de banana: emprego de enzimas pectinolíticas e efeito de fontes de nitrogênio e quantidade de inóculo na formação de álcoois superiores*. 2007. 74 p. Dissertação em Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

LE, H. D. T.; LE, V. V. M. Effects of initial pH value of the medium on the alcoholic fermentation performance of *Saccharomyces cerevisiae* cells immobilized on nipa leaf sheath pieces. *Songklanakarin Journal of science and Technology*, v. 36, n. 6, p. 663-667, 2014.

LEE, K. H. *et al.* Enhanced production of bioethanol and ultrastructural characteristics of reused *Saccharomyces cerevisiae* immobilized calcium alginate beads. *Bioresource Technology*, v.102, n 17, p. 8191-8198, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.06.063>

LEMOS, D. M. *et al.* Propriedades físico-químicas e químicas de duas variedades de jaca. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, Mossoró – RN, v. 7, n. 3, p.90-93, 2012.

LIMA, T. de O. *Produção artesanal de aguardente de mel de abelhas de diferentes floradas*. 2011. 106 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

MACHADO, E. *Biotecnologia e a produção de Hidromel*. Profissão Biotec. 2020.

MADRUGA, S. M. *et al.* Chemical, morphological and functional properties of Brazilian jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) seeds starch. *Food Chemistry*, v.143, p. 440- 445, 2014.

MAITY, T.; BAWA, A. S.; RAJU, P. S. Effect of preconditioning on physicochemical, microstructural, and sensory quality of vacuum-fried jackfruit chips. *Drying Technology*, v. 36, n. 1, p. 63–71, 2018.

MALISZEWSKI, E. *Mel brasileiro no topo: Com profissionalização e cuidados com meio ambiente é possível aumentar a produção nacional*. 2019.

MARCHINI, L. C., OTSUK, I. P., MORETI, A. C. C. C., SODRÉ, G. S. Physicochemical composition of apis meüifera honey samples from são paulo state, Brazil. *Química Nova*, v. 30, n.7, p. 1653-1657, 2007.

MASCARENHAS, A.S. *et al.* Mead production: effect of pineapple pulp concentration (*Ananas mill*). *Brazilian agrotechnology magazine*, v. 7, n. 2, p.436 - 440, 2017.

MEAD BREWING. *Making Mead: the art and the Science*. 2012. Disponível em:< <https://www.alamedabees.org/wp-content/uploads/2012/04/makingmead.pdf>> Acesso em: out, 2019.

MELO, F.S.N. *Caracterização do mel de abelha e produção de aguardente de mel de acordo com a florada típica do sertão paraibano*. 2012. 77 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal.

MENDES, T. A. O. *et al.* Aumento na produção de biomassa de levedura em propagador aerado por processo descontínuo e semicontínuo para produção de cachaça. *Brazilian Journal of Food Technology*, v.16, p.81-89, 2013.

MENDONÇA, J. G. P. *et al.* Avaliação dos padrões de identidade e de qualidade de aguardentes de frutas. *e-xacta*, v.7, p.31-4, 2014.

MIRANDA, M. B. *et al.* Perfil físico-químico de aguardente durante envelhecimento em tonéis de carvalho. *Food Science and Technology*, v. 28, p.84–89, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000500014>

MONDAL, C., *et al.* Product development from jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) and analysis of nutritional quality of the processed products. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*, v.4, n1, p.76-84, 2013.

MONTE ALEGRE, R.; RIGO, M.; JOEKES, I. Ethanol fermentation of a diluted molasses medium by *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on chrysotile. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.46, p.751-757, 2003

MORAES, F. *et al.* Caracterização físico-química de amostras de mel de abelha africanizada dos municípios de Santa Helena e Terra Roxa (PR). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 66, n. 4, p. 1269-1275, 2014.

MORAIS, D.N.; MADALOZZO, E.S. Caracterização físico-químico das frações polpa, mesocarpo e semente de duas variedades de jaca (*Artocarpus heterophyllus* L.), em dois estágios de maturação. *Brazilian Journal of Food Research*, v.11, n.2, p.49-61, 2020.

MOREIRA, *et al.* *Lignocellulosic composition based thermal kinetic study of Mangifera indica, Artocarpus heterophyllus and Syzygium jambolana seeds*. 2021.

MORO, K. I. B. *Desenvolvimento e caracterização de aguardente de frutas à base de polpa de banana (Musa sp.) e de suco de abacaxi (Ananas Comosus (L) merril)*. 2016. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria UFSM, Santa Maria, 2016.

NAJAFPOUR, G.; YOUNESI, H.; ISMAIL, K.S.K. Ethanol fermentation in an immobilized cell reactor using *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresource technology*, v. 92, n. 3, p. 251-260, 2004.

NASCIMENTO, K. S. *Compostos fenólicos, capacidade antioxidante e propriedades físico-químicas de méis de Apis mellifera do Estado do Rio Grande do Sul*. 2016. 82 p. Dissertação (mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

NAVARRETE-SOLIS, A. *et al.* Rheological and physicochemical stability of hydrolyzed jackfruit juice (*Artocarpus heterophyllus* L.) processed by spray drying. *Journal of Food Science and Technology*, v. 57, n.2, p.663-672, 2020.

NAVRÁTIL, M.; STURDÍK, E.; GEMEINER, P. Batch and continuous mead production with pectate immobilised, ethanol-tolerant yeast. *Biotechnol. Lett.*, v.23, p.977-982, 2001.

NIKOLIC, S.; MOJOVIC, L.; RAKIN, M.; PEJN, D.; NEDOVIC, V. Effect of different fermentation parameters on bioethanol production from corn meal hydrolyzates by free and immobilized cells of *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*. *J. Chem. Technol. Biotechnol ogy*, v.84, p.497-503, 2008.

NOGUEIRA, A.; VENTURINI FILHO, W. G. *Aguardentes e cachaça*. 2013. Monografia em Ciências Agrônômicas. Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

OLIVARES, M. *et al.* Iron, Zinc, and Copper: Contents in Common Chilean Foods and Daily Intakes in Santiago, Chile. *Nutrition*, v. 20, n. 2, p. 205-212, 2004.

OLIVEIRA, M.S. Disponibilização de compostos funcionais em farelo de arroz fermentado em estado sólido. 2009. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande.

OLIVEIRA, E.S. *Características fermentativas, formação de compostos voláteis e qualidade da aguardente de cana obtida por linhagens de leveduras isoladas de destilarias artesanais*. 2001. 135 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade de Campinas, Campinas.

ONGARATTO, R. S.; VIOTTO, L. A. Efeito do tratamento enzimático sobre a viscosidade e os teores de fibra e pectina em suco de pitanga (*Eugenia uniflora* L.). *Braz. J. Food Technol.*, v. 18, n. 3, p. 231-238, 2015.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO - FAO. FAOSTAT. Divisão de estatística. Disponível em: < <https://www.fao.org/faostat/en/> >. Acesso em 14 jun. 2024.

PACHECO, C.S.V. Aproveitamento da semente da jaca para a obtenção de endoglucanase a partir de *Aspergillus Níger* por fermentação em estado sólido. *UNOPAR Científica*, Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina, v.14, n.1, p.25-29, 2012.

PALMEIRA, G.B.T. *Produção e caracterização de aguardente à base de banana, mel e erva mate ultra refinada*. 2025. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos.

PARENTE, G. D. L. *Cinética da fermentação e da destilação na produção de aguardente de abacaxi*. 2014. 77 p. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) - Universidade Federal de Campina Grande – UFCG.

PAULA NETO, F. L.; ALMEIDA NETO, R. M.; DA NETO, R. M. *Apicultura nordestina: principais mercados, riscos e oportunidades*. Fortaleza: BNB, 2006.

PEREIRA, A.P. *et al.* Effect of *Saccharomyces cerevisiae* cells immobilisation on mead production. *LWT - Food Science and Technology*, v.56, p. 21-30, 2014.

PEREIRA, A. P. *et al.* Improvement of mead fermentation by honey-must supplementation. *Journal of the institute of Brewing*, v. 121, p. 405-410, 2015.

PEREIRA, A. P. R. *Caracterização de Mel com vista à Produção de Hidromel*. 2008. Dissertação (Dissertação em Qualidade e Segurança) - Instituto Politécnico. Bragança – Portugal.

PEREIRA, L. G. R. *et al.* Composição bromatológica e cinética de fermentação ruminal in vitro da jaca dura e mole (*Artocarpus heterophyllus*). *Livestock Res Rural Development*, v. 19, n. 3, 2007.

PEREIRA, P.J. M. F. *Propriedades antibacterianas do mel*. FUNAUP, 2007.

PIATZ, S. *The complete guide to making mead*. 1. ed. USA: Voyageur Press, v. 1, 2014.

PINEAU, N. J. *et al.* Spirit distillation: monitoring methanol formation with a hand-held device. *ACS Food Science & Technology*, v. 1, n. 5, p. 839–844, 2021. DOI: 10.1021/acsfoodscitech.1c00025.

PLESSAS, S.; BEKATOROU, A.; KOUTINAS, A. A.; SOUPIONI, M.; BANAT, I. M.; MARCHANT, R. Use of *Saccharomyces cerevisiae* cells immobilized on orange peel as biocatalyst for alcoholic fermentation. *Bioresour. Technol.* v. 98, p. 860–865, 2007.

PRATAMA, A. W. *et al.* Potential of cellulose from wood waste for immobilization *Saccharomyces cerevisiae* in bioethanol production. *Journal of the Indian Chemical Society*, v. 100, n. 11, p. 101106, 2023.

QUEIROZ, E.L.Q. Estudo dos parâmetros fermentativos, físico-químicos e sensoriais da produção de hidromel suplementado com polpa de jaca (*Artocarpus Integrifolia* L.) hidrolisada. 2020. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.

QUEIROZ, E.L.Q. *et al.* Melomel Production by *Saccharomyces bayanus* Using Hydrolyzed Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) Pulp, Pollen, and Rice (*Oryza sativa*) Bran Extract as Unconventional Supplements. *Industrial Biotechnology*, v.19, p. 151-162, 2023. 10.1089/ind.2023.0005.

RAMALHOSA, E. *et al.* Mead production: Tradition versus modernity. *Adv. Food Nutr. Res.*, v. 63, p. 101–118, 2011.

RANASINGHE, R. A. S. N.; MADUWANTHI, S. D. T.; MARAPANA, R. A. U. J. Nutritional and Health Benefits of Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.): A Review. *International Journal of Food Science*, 2019.

RANASINGHE, R. A. S. N.; MARAPANA, R. A. U. J. Effect of Maturity Stage on Physicochemical Properties of Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) flesh. *World Journal of Dairy and Food Science*, v.14, n.1, p.17-25, 2019.

RAO, P. V. *et al.* Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: a comparative review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.26, p.657-664, 2016.

RECHE, R.V.. *Aspectos da tipificação da aguardente*. 2006. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, Lorena.

RESENDE, R. F. M.; RODRIGUES, T. V. D. *Caracterização do mel e hidromel produzido visando a produção de vinagre e mel*. 2015. Trabalho de conclusão de curso (Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Pampa - Bagé.

RIBEIRO, L.P.M. Avaliação da qualidade do mel: atividade antioxidante, análise polínica e percepção do consumidor. 2013. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Portugal.

RIVALDI, J. D.; SILVA, M. M.; COELHO, T. C.; OLIVEIRA, C. T. Characterization and sensorial profile of mead produced by *Saccharomyces cerevisiae* IZ 888. *Brazilian Journal of Food Technology*, jun 2009.

RODRIGUES, R. C. L. B. *et al.* Enhanced xylitol production by precultivation of *Candida guilliermondii* cells in sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate. *Current Microbiology*, v. 53, n.1, p.53–59, 2006. <https://doi.org/10.1007/s00284-005-0242-4>.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. *Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia sequencial de planejamentos*. Campinas: Campinas, 2009. 358p.

ROESLER, R. *et al.* Atividade antioxidante de frutas do cerrado. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.27, n.1, p. 53-60, 2007.

ROLDÁN, A. *et al.* Influence of pollen addition on mead elaboration: Physicochemical and sensory characteristics. *Food Chem.*, v.126, p.574–582, 2011.

SÀ, M.J.P. *Produção de etanol por levedura imobilizada em sabugo de milho*. 2003. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

SAMPAIO, K.F. *Production of mead using soursop (Annona muricata L.) and cowpea (Vigna unguiculata L.) as supplements*. 2019. 131f. Dissertation (Master's in Biotechnology), Department of Biological Sciences. State University of Feira de Santana, Bahia, Brazil.

SANTOS, D. *et al.* Desenvolvimento de pão francês com a adição de farinha de caroço de jaca (*Artocarpus integrifolia* L.). *Enciclopédia Biosfera*, v.8, n.15, 2012.

SANTOS, A.M. *Fermentação alcoólica com levedura imobilizada em colmos de bambu e em fibra de coco*. 2008. 82 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

SANTOS, J.C. *Processo fermentativo de obtenção de xilitol a partir de hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar em reator de leito fluidizado: avaliação das condições operacionais*. 2005. 212 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena – SP.

SARKAR, S. *et al.* Honey: the “marvel molecule” of mother nature augments some cutting-edge technologies for analytical validation. In: ADHIKARI, Dipan (ed.). *Pure honey: assurance & authentication*. Singapore: Springer, 2025. p. 123–146.

SARROUH, B.F. *Estudo da produção biotecnológica de xilitol em reator de leito fluidizado utilizando bagaço de cana-de-açúcar e células imobilizadas: Avaliação de Parâmetros operacionais e viabilidade econômica*. 2009. 185 p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de Lorena EEL-USP, Lorena.

SEBRAE. *Maria Edivângela transformou um fruto da sua comunidade em um negócio de sucesso*. Disponível em: <https://personagenssebrae.com.br/historias/maria-edivangela-transformou-um-fruto-da-sua-comunidade-em-um-negocio-de-sucesso/> . Acesso em: maio, 2025.

SEBRAE. *A produção de Mel no Brasil*. Paraná. 2025 . Disponível em: <https://sebraepr.com.br/impulsiona/a-producao-de-mel-no-brasil/>. Acesso em: maio, 2025.

SILVA, A.K.C. *et al.* Reuse of cells in meat production using Tamarindus indica pulp as an unconventional supplement. *European Food Research and Technology*, v. 248, p 1-13, 2022. DOI: 10.1007/s00217-022-04068-x.

SILVA, E. L. de O. *et al.* O potencial do mercado internacional de mel a partir da legislação e normas para exportação. *Revista De Gestão E Secretariado*, v.14, n.6, p. 9395–9419, 2023. DOI: 10.7769/gesec.v14i6.2307.

SILVA, J. C. C. *Elaboração de cookie adicionado de farinha da semente de jaca e doce de leite vegano: avaliação física e sensorial*. 2019. 43 fl. (Trabalho de Conclusão de Curso – Monografia), Curso de Bacharelado em Nutrição, Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité – Paraíba – Brasil, 2019. Disponível em: <https://dspace.sti.ufcg.edu.br/handle/riufcg/8296>.

SILVA, M. C. *et al.* Elaboração e avaliação da qualidade de aguardentes de frutas submetidas a diferentes tratamentos. *Revista Semiárido De Visu*, v. 1, n. 2, p. 100-114, 2011.

SILVA, J.H.V. *et al.* Effects of including jackfruit seed meal (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) in feed on production, yolk pigmentation and fecal moisture in quails. *Agricultural Science*, Lavras. v.31, n.2, p.523-530, 2007.

SILVA, R. A. *et al.* Composição e propriedades terapêuticas do mel de abelha. *Alim. Nutr.*, Araraquara, v.17, n. 1, p.113- 120, 2006.

- SOUSA, A. P. M. de et al. Parameters of physical and chemical quality of the central axis, mesocarp and jackfruit seed submitted to diferente drying processes. *Research, Society and Development*, [S. l.], v. 11, n. 4, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i4.27328.
- SOUSA, A. P. M. De et al. (2020). Avaliação da qualidade de farináceos de casca de jaca / Quality assessment flour of jacafruit shell. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 3(3), 1786–1796. DOI: 10.34188/bjaerv3n3-094.
- SOUSA, A. P. M. et al. Cinética de secagem de resíduos de *Artocarpus Heterophyllus* Lam. In: *Processos Químicos e Biotecnológicos* (pp. 60-65). Editora Poisson. 2020b. Doi: .36229/978-65-86127-43-0.
- SOUSA, A. V. B. de et al. (2018). Determinação do teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante da cajuína e do mel produzidos no estado do Piauí - Brasil. *Interfaces Científicas - Saúde E Ambiente*, v.6, n.2, p.21–32, 2018. DOI: 10.17564/2316-3798.2018v6n2p21-32
- SOUSA-DIAS, M.L. et al. Mead Production Using Immobilized Cells of *Saccharomyces cerevisiae*: Reuse of Sodium Alginate Beads. *Processes*, n.9, p.724, 2021. <https://doi.org/10.3390/pr9040724>.
- SOUZA, H. M.S. et al. Potencialidade da polpa e dos resíduos da jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) na elaboração de um doce sustentável. *Brazilian Journal of Development*, v.6, n.11, p. 87251-87269, 2020.
- SOUZA, F. G. D. et al. Análise do mel de pequenos produtores do Vale do Médio Araguaia – TO. *Enciclopédia Biosfera*, v. 8, n. 15, p. 100-108, 2012.
- SOUZA, M. M. D. et al. Avaliação das atividades antifúngica e antimicotoxina de extratos fenólicos de farelo de arroz. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, p. 437-441, 2012.
- SOUZA, T. S. et al. Desidratação osmótica de frutículos de jaca (*Artocarpus integrifolia* L.): aplicação de modelos matemáticos. *Acta Scientiarum. Technology*, Maringá-PR, v.31, n.2, p.225- 230, 2009.
- SOUZA, M. A. Determinação das propriedades termofísicas de polpas de frutas tropicais: jaca (*artocarpus heterophilus* lamk.) e umbu (*Spondias Tuberosa* Arr. Cam.). 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Itapetinga, Bahia.
- SOUZA, M. D. C. A.; DEL MASTRO, N. L. Irradiation of cane sugar spirit. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 57, p. 257-259, 2000.
- 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.
- TIWARI, A. K., et al. Study of rheological properties and storage life of ripe jackfruit products: jam and jelly. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences Paper*, v.18, n.2, p.475-482, 2016.
- TORTORA G. J.; FUNKE B. R.; CASE C. L. *Microbiologia*. 12. ed. Porto Alegre: Artmed Editora p. 127-131, 2016.

USDA - United States Department of Agriculture. Honey. 2020. Disponível em: https://www.nass.usda.gov/Publications/Todays_Reports/reports/hony0519.pdf. Acesso em: 10 nov. 2020.

VARGAS, T. *Avaliação da qualidade do mel produzido na Região dos Campos Gerais do Paraná*. 2006. 134p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2006.

VASCONCELOS, J.N. de. *Alcoholic fermentation with yeast immobilized on sugarcane stalks*. 1998. Dissertation (MsC), School of Chemistry, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

VIDAL, M.F. Evolução da produção de mel na área de atuação do bnb. 2020. Disponível em: https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/229/1/2020_CDS_112.pdf. Acesso em: Abril, 2025.

VIDRIH, R.; HRIBAR, J. Mead: The Oldest Alcoholic Beverage. *Traditional Foods*, p. 325–338, 2016.

VILELA, A. et al. Reduction of volatile acidity of acidic wines by immobilized *Saccharomyces cerevisiae* cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v.97, p.4991–5000, 2013.

WATANABE, C. A. *Aproveitamento do mesocarpo da jaca em substituição ao peito de frango*. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira.

XU, S. et al. Ultrasonic-microwave assisted extraction, characterization and biological activity of pectin from jackfruit peel. *LWT*, n.90, p.577-582, 2018.

YI, J. et al. Developing Novel Combination Drying Method for Jackfruit Bulb Chips: Instant Controlled Pressure Drop (DIC)-Assisted Freeze Drying. *Food and Bioprocess Technology*, v. 9, n. 3, p. 452–462, 2016.

ZATTERA, T. C. et al. *Estudo das potencialidades da aplicação de leveduras encapsuladas para elaboração de vinhos espumantes*. In: MOSTRA NACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA INTERDISCIPLINAR, 8., 2015, Santa Rosa do Sul. Anais [...]. Santa Rosa do Sul: IFC, 2015. p. 1-5.

ZHANG, Yanjun et al. Characterizations of high purity starches isolated from five different jackfruit cultivars. *Food hydrocolloids*, v. 52, p. 785-794, 2016.

ZHOU, Z. et al. The distribution of phenolic acids in rice. *Food Chemistry*, Oxford, v. 87, n. 3, p. 401-406, Sep. 2004

ZOCCA, F. et al. Detection of pectinmethylesterase activity in presence of methanol during grape pomace storage. *Food Chem.* v.102, p.59–65, 2007.

ZOECKLEIN, B. W. et al. *Análisis y producción de vino*. Zaragoza:Editorial Acribia S.A., 2001.

**APÊNDICE A - OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO FERMENTATIVO PARA
PRODUÇÃO DE HIDROMEL: UMA REVISÃO.**



Optimization of the fermentation process for mead production: a review

Otimização do processo fermentativo para produção de hidromel: uma revisão

Edinara Lacerda Queiroz

Master in Biotechnology

Institution: Universidade Estadual de Feira de Santana

Address: Avenida Transnordestina, Feira de Santana, Bahia, CEP: 44036-900

E-mail: edinaralacerda@gmail.com

Tamires Bastos de Almeida

Master in Biotechnology

Institution: Universidade Estadual de Feira de Santana

Address: Avenida Transnordestina, Feira de Santana, Bahia, CEP: 44036-900

E-mail: tamires.ba@outlook.com

Anne Kettery Carneiro e Silva

Master in Biotechnology

Institution: Universidade Estadual de Feira de Santana

Address: Avenida Transnordestina, Feira de Santana, Bahia, CEP: 44036-900

E-mail: annekettery@gmail.com

Adriana Soares Annunciation

Graduate in Food Engineering

Institution: Universidade Estadual de Feira de Santana

Address: Avenida Transnordestina, Feira de Santana, Bahia, CEP: 44036-900

E-mail: annicacao.adrianasoares85@gmail.com

Sílvia Maria Almeida de Souza

PhD in Food Engineering

Institution: Universidade Estadual de Feira de Santana

Address: Avenida Transnordestina, Feira de Santana, Bahia, CEP: 44036-900

E-mail: ss_almeida@uefs.br

Ernesto Acosta Martinez

PhD in Industrial Biotechnology

Institution: Universidade Estadual de Feira de Santana

Address: Avenida Transnordestina, Feira de Santana, Bahia, CEP: 44036-900

E-mail: ernesto.amartinez@uefs.br

ABSTRACT

Honey is a food product characterized by being viscous, aromatic and with a high concentration of glucose and fructose sugars, produced by bees and has been used for centuries in the preparation of drinks. Mead is the product obtained by



fermenting the mead wort and water, with high added value, which can be added from fruits, herbs and spices. Mead is one of the oldest alcoholic beverages consumed by man and is part of the history of many civilizations. Currently in many countries of the world its production and consumption is quite considerable, being a product of high added value. The production of mead still occurs in an artisanal manner, demonstrating the need for research that improves, optimizes and reduces the costs of the productive process. The processing depends on many factors, among them the composition of the honey, the yeast used, the fermentation methods and parameters and the additives, factors directly interfere in its sensory quality. This article will address the aspects related to the production and optimization of the process for obtaining mead, with techniques that have been used in scientific research to ensure reduction of fermentation time and a quality final product, such as use of different raw materials, innovative supplements, process steps and methods.

Keywords: mead, optimization, immobilization, supplements, cell reuse.

RESUMO

O mel é um produto alimentício caracterizado por ser viscoso, aromático e possuir elevada concentração dos açúcares glicose e frutose, sendo produzido por abelhas e tem sido usado há séculos no preparo de bebidas. O hidromel é o produto obtido pela fermentação do mosto de mel e água, com alto valor agregado, que pode ser adicionado de frutas, ervas e especiarias. O hidromel é uma das mais antigas bebidas alcoólicas consumida pelo homem, fazendo parte da história de diversas civilizações. Atualmente em muitos países do mundo sua produção e consumo é bastante considerável, sendo um produto de alto valor agregado. A produção de hidromel ainda ocorre de maneira artesanal, demonstrando a necessidade de pesquisas que aprimorem, otimizem e reduzam custos do processo produtivo. O processamento depende de muitos fatores, dentre eles, a composição do mel, a levedura utilizada, os métodos e parâmetros fermentativos e os aditivos, fatores interferem diretamente na sua qualidade sensorial. Neste artigo serão abordados os aspectos relacionados à produção e otimização do processo para obtenção do hidromel, com técnicas que tem sido utilizadas em pesquisas científicas para garantir redução de tempo de fermentação e um produto final de qualidade, como uso de diferentes matérias-primas, suplementos inovadores, etapas e métodos do processo.

Palavras-chave: hidromel, otimização, imobilização, suplementos, reuso de células.

1 INTRODUCTION

Mead, also known as honey wine, is considered one of the first fermented drinks that originated thousands of years ago (RIVALDI *et al* ., 2009). Its origin is



believed to predate wine, according to archaeological discoveries that reveal evidence of its production in China 9,000 years ago, among other people who manufactured and consumed the drink (BERRY, 2007). Mead was an important part of the rituals of the Celts, Anglo-Saxons and Vikings, referred to as the drink of nobles and gods, capable of providing immortality and knowledge (GUPTA; SHARMA, 2009).

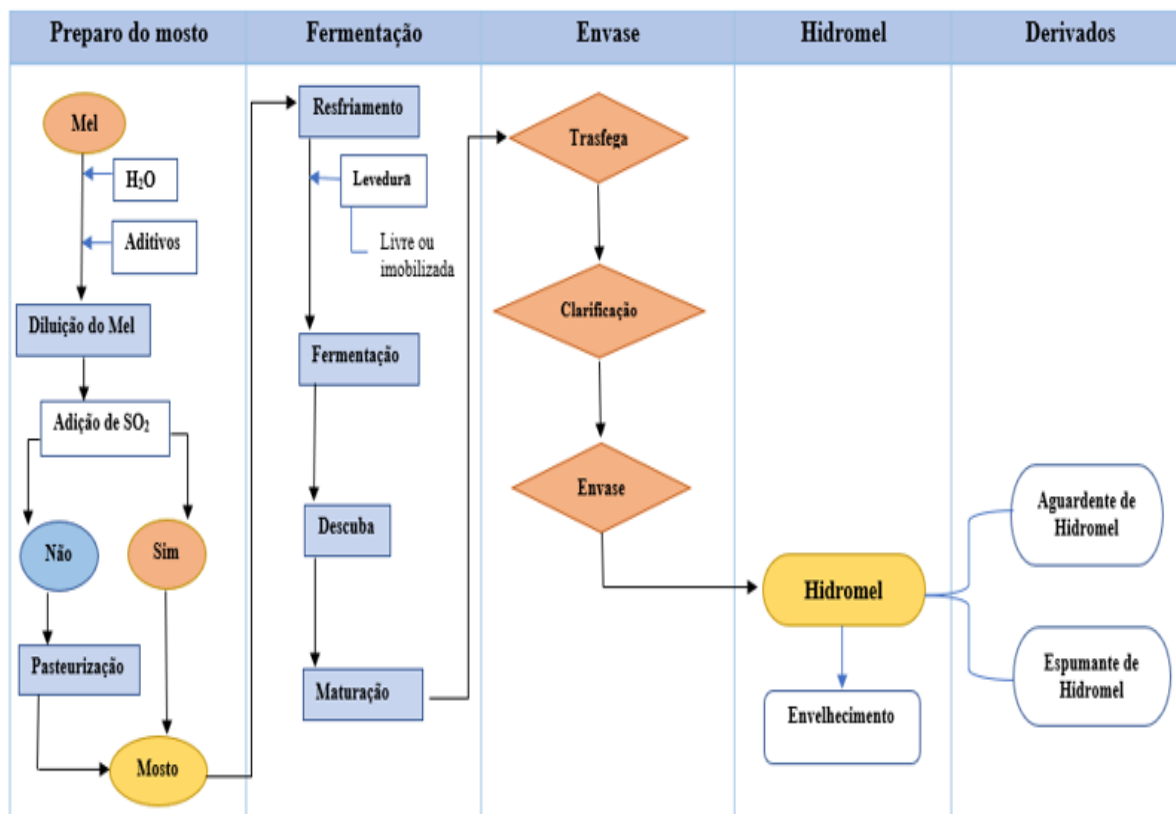
Mead can be classified as dry, liqueur, sweet and frothy, as a result of its manufacturing technology. Its production depends on the fermentation time, the amount of honey used and the alcohol content resulting from the addition of spirit (GOMES, 2010). According to Gupta and Sharma (2009), honey has been used for centuries in the preparation of drinks and can be fermented to produce different types of mead that can have different flavors depending on the floral origin of the honey and the additives and yeasts used in fermentation. . There are other alcoholic drinks made from honey, such as *braggot* mead made with malt grains (brewery wort) and honey; *brandy* mead , where after the fermentation stage honey spirit is made, obtained by distilling mead (IGLESIAS *et al* ., 2014). The mead market is driven by demand in countries such as France, Italy, the United Kingdom, as well as the United States where sales grew 20% from 2013 to 2018 (GRAND VIEW RESEARCH, 2019).

2 MEAD PROCESSING

Mead is produced considering the stages of preparation and correction of the must, preparation of the stem, yeast inoculation, fermentation, clarification, maturation and packaging (MATIETTO *et al* ., 2006; ARAÚJO *et al*., 2020; ALMEIDA *et al* ., 2020), in addition to these, processes can be added that add value to the final product, such as aging the mead and also the possibility of giving rise to other products such as sparkling wine and the use of distillation to produce brandy. Within this context, the information will be arranged in a simplified way to provide an overview of the mead processing (Figure 1).



Figure 1: Mead processing flowchart.



Source: ALMEIDA *et al.* (2020) with adaptations.

Mead is a traditional alcoholic drink with 4 to 14% v/v ethanol, resulting from the fermentation of honey must and drinking water, with or without the addition of salts and other sources of nutrients (BRASIL, 2008), followed by adjustment pH, must supplementation and inoculation. Depending on the proportion in which the honey is diluted, different types of mead are obtained, the finest with 1:0.5 (honey: water) or 1:1, 1:2 and 1:3, the latter are the most concentrated concentrations. usual in processing (SROKA; TUSZYNSKI, 2007). The different types of honey also influence fermentation, dark honey is richer in minerals than light honey, thus interfering with obtaining the product (FONSÊCA, 2013; ARAÚJO *et al.*, 2021).

The preparation of the must basically consists of mixing water and honey, although the proportion of water can be replaced by fruit juice (PEREIRA, 2013), fruit pulp (QUEIROZ *et al.*, 2023, CARNEIRO and SILVA *et al.* , 2022; AMORIM *et al.*, 2018, ANUNCIAAÇÃO *et al.*, 2017, MASCARENHAS *et al.* , 2017), pollen



(QUEIROZ *et al.* , 2023, KEMPKA; MANTOVANI, 2013, ROLDÁN *et al.* , 2011), natural extracts as supplement fermentation (ARAÚJO *et al.* , 2021), depending on the type of mead to be produced.

Fermentation is considerably affected by the physical-chemical characteristics of the must such as low pH value, sugar content and nutrient levels; Among the nutrients assimilated by yeasts during fermentation, nitrogen compounds are quantitatively the most important, after carbon compounds, as they are essential for their growth and metabolism (CASELLAS, 2005), as well as the performance of *Saccharomyces cerevisiae* strains in resisting to stressful conditions such as high osmolarity, low concentration of essential nutrients, low mineral content, low pH and low buffering capacity (CUENCA *et al.* , 2016). During the fermentation process, some problems may occur, the most common being the inability to reach the desired alcohol content, long fermentations and the heterogeneity of the final product (PEREIRA *et al.* , 2014). The high sugar content in honey makes the fermentation process quite slow, with the variety of honey, the strain of yeast, the available nutrients and the pH of the medium (NAVRÁTIL *et al.* , 2001) being important variables that affect production and quality. of mead (MILESKI, 2016).

During the fermentation process, some problems may occur, the most common being the inability to reach the desired alcohol content, long fermentations and the heterogeneity of the final product (PEREIRA *et al.* , 2014). The high sugar content in honey makes the fermentation process quite slow, with the variety of honey, the strain of yeast, the available nutrients and the pH of the medium (NAVRÁTIL *et al.* , 2001) being important variables that affect production and quality. of mead (MILESKI, 2016).

Yeasts are responsible for alcoholic fermentation in beverages, with the main species used in this process being those of the genus *Saccharomyces* sp. (AQUARONE *et al.* , 2001). The sensorial characteristics of the drink are directly related to the type of yeast used, and although ethanol is its main product, it is the products formed by secondary metabolism that give the fermented product a distinct aroma and flavor (GUERRA, 2010). Yeasts impart different aromas to the



drink, but they can also produce different alcoholic strengths depending on the residual sugar in the final drink. Certain yeasts will not ferment beyond 4% alcohol; others (*Saccharomyces bayanus* , for example) can reach up to 15% v/v ethanol (SAMPAIO, 2019).

Yeasts can be selected through the hydrogen sulfide test, as their production implies the production of disgusting odors in the final product, so the lower the production of H₂S, the more suitable the yeast is (MARTINS, 2020; ARAÚJO et al., 2020). It is also important that the microorganism has a reduced production of sulfur dioxide, foam and volatile acidity, as well as a good enzymatic profile characterized by high activities of proteolytic β -glucosidase, low production of acetaldehyde and the absence of amine production. biogenic (NIKOLAOU et al., 2006).

The use of selected yeasts with specific characteristics for the production of mead offers several advantages such as: complete and regular fermentation of the wort, adequate production of ethanol, controlled production of acids, the possibility of faster clarification of the wort, improvement of the biological stability of the drink and obtaining particular aromas (ANGIOLLETO, 2013; NOGUEIRA et al., 2003). When selecting strains suitable for mead production, it is necessary to consider tolerance to ethanol, fermentative activity, fermentative capacity at temperatures consistent with the conditions of fermentation, multiplication and glycerol production. It is also necessary that there is a reduced production of sulfur dioxide and sulfite resistance, reduced foam production, low acetaldehyde production and absence of biogenic amines (NIKOLAOU et al., 2006).

The discontinuous fermentation process using free cells is the most common, with research being carried out using temperatures from 18 to 30 oC and pH values between 3.5 and 5.5 (GUPTA; SHARMA; 2009; AMORIM et al . , 2018). Recent studies address the use of cells immobilized in calcium alginate in the production of mead (SOUSA DIAS, 2021; PEREIRA et al . , 2014), reporting the achievement of high concentrations of viable cells, approximately 10⁸ CFUs/mL, and meads more aromatic than with the use of free cells (PEREIRA et al . , 2014).



3 OPTIMIZATION OF THE FERMENTATION PROCESS

Many strategies have been introduced to optimize fermentation for hydromel production through the use of appropriate honey must formulations to improve yeast performance in alcoholic fermentation, using starter cultures isolated from honey, commercial starter cultures, use of unconventional supplements, cell immobilization and cell reuse (MENDES-FERREIRA *et al.*, 2010; PEREIRA *et al.*, 2009; TERAMOTO, SATO, UEDA, 2005; KOGUCHI, SAIGUSA, TERAMOTO, 2009; NAVRÁTIL *et al.*, 2001; SROKA; TUSZYNSKI, 2007; ARAUJO *et al.*, 2020, CARNEIRO E SILVA *et al.*, 2022).

3.1 INNOVATIVE SUPPLEMENTS

Scientific advances made for mead production include the development of additive formulations, optimization of fermentation conditions and improvements in processing (IGLESSIAS, 2014; CARNEIRO E SILVA *et al.*, 2022). Despite the high concentrations of fermentable sugars, honey is deficient in nitrogen, minerals and factors necessary to stimulate yeast growth and consequent fermentation (GUPTA; SHARMA, 2009).

Due to honey's low content of nitrogenous compounds, low pH and low concentration of minerals, mead production requires a long fermentation time and requires must supplementation. Among the nutrients necessary for the yeast multiplication and fermentation process to occur properly are sources of carbon, hydrogen, oxygen, nitrogen, phosphorus, sulfur, and ions such as potassium and magnesium (GOMES *et al.*, 2013; PIATZ, 2014; WALKER, 1998). Drinks made from honey, in addition to being very sweet, generally have low viscosity. To minimize this problem, as well as to stimulate the fermentation process, the production of alcohol and the improvement of sensory characteristics, organic acids and fruits (in the form of juices, pulps or pieces), pollen and natural extracts (nitrogen sources) can be used. added to optimize the process (ROLDÁN, 2011; JOSHI *et al.*, 1990; ARAÚJO *et al.*, 2020; GUPTA; SHARMA, 2009; AMORIM *et al.*, 2018).



According to Morse (1980), the addition of ingredients to supplement mead wort reduces fermentation time, prevents the development of contaminating microorganisms responsible for the production of undesirable odors and increases the shelf life of the product. Nitrogen sources are the nutrients of greatest interest to researchers involved in research into mead production (FERRAZ, 2015). A variety of additives have been the focus of research in mead supplementation, some of them are described in Table 1.

Table 1: Additives used in must supplementation for Mead processing.

Authors	Supplement	Alcohol content	Fermentation Time (days)
QURESHI; TAMHANE (1985)	$C_6H_{12}O_6$, Yeast extract, Peptone, $MgSO_4$, $ZnSO_4$ and KH_2PO_4 90	70 g/L	>90
PEREIRA <i>et al.</i> (2014)	$(NH_4)_2HPO_4$	10.73 to 11.2% v/v	5
GOMES <i>et al.</i> (2013)	Commercial nutrients and SO_2	91.4 to 124 g/L	15
SROKA; TUSZYŃSKI (2007)	$(NH_4)_2HPO_4$ and $C_6H_8O_7$	Uninformed	25–30
ROLDÁN <i>et al.</i> (2011)	$K_2S_2O_5$ and pollen.	9.04 to 12.39% v/v	Uninformed
SALANTA <i>et al.</i> (2018)	Pollen, lime juice, Rosa canina (Măceșemel) and ginger	8.38 to 10.45% v/v	3-21
ALMEIDA <i>et al.</i> (2020)	Di-ammonium phosphate and Ammonium sulphate	3.85 to 10.10% v/v	28
ARAÚJO <i>et al.</i> (2020)	Cowpea extract, $MgCl_2$, $(NH_4)_2SO_4$	11.3% to 15.5% v/v	1-10
ANUNCIAÇÃO <i>et al.</i> (2017)	Tamarind pulp	12.68 to 14.26% v/v	2-12
MASCARENHAS <i>et al.</i> (2017)	Pineapple pulp	12.52% to 13.48% v/v	2-12
AMORIM <i>et al.</i> (2018)	Yeast extract, malt extract, peptone, $MgCl_2$, $(NH_4)_2SO_4$, $(NH_4)_3PO_4$ and acerola pulp.	15.2 to 16.6% v/v	1-12
ARAÚJO <i>et al.</i>	Rice and soy bran extracts	12.3 to 15% v/v	1-12



al. (2022)

CARNEIRO E SILVA et al. (2022)	Tamarind pulp, MgCl_2 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	8.61 to 14.49% v/v	1-9
QUEIROZ et al. (2023)	Jackfruit pulp, pollen, rice bran extract, MgCl_2 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	14 to 18.2% v/v	2-12

Source: Adapted from Iglesias *et al.* (2014).

According to Mendes-Ferreira *et al.* (2010) there is a consensus among mead producers that improving the quality of this drink involves the development of appropriate nutritional supplements and optimization of fermentation conditions. As the nitrogen content of honey (0.04%) is very low (AL-MAMARY *et al.*, 2002), the use of low-cost nitrogen sources has been continuously investigated by replacing yeast extract and peptone, which are more widely used on a laboratory scale (SRIDEE *et al.*, 2011; ARAÚJO *et al.*, 2020). Several authors have evaluated the influence of the use of synthetic supplements on the fermentation process, such as salts (SROKA; TUSZYNSKI, 2007; PEREIRA *et al.*, 2009; BARRIOS *et al.*, 2010; MENDES-FERREIRA *et al.*, 2010; MORALES *et al.*, 2013; PEREIRA *et al.*, 2013; PEREIRA *et al.*, 2014; CZABAJ *et al.*, 2017), vitamins (NAVRÁTIL *et al.*, 2001; CHEN *et al.*, 2013), yeast extract, malt extract and peptone (RIVALDI *et al.*, 2009; AMORIM *et al.*, 2018).

The use of fruit pulps as supplements in fermentation has been studied by several authors. Queiroz *et al.* (2023), Anunciação *et al.* (2017), Mascarenhas *et al.* (2017) and Amorim *et al.* (2018), evaluated in their work the effect of supplementing honey must with hydrolyzed jackfruit pulp, pineapple pulp, tamarind pulp and acerola pulp, respectively, on the fermentation of mead by strains of *S. accharomyces*. The reported results demonstrate that the use of different concentrations of fruit pulp optimized the fermentative conditions for mead production.

Nitrogen sources are the most important nutrients in the production of mead, as they are essential for the metabolism and growth of the microorganism (VARELA; PIZARRO; AGOSIN, 2004). Araújo *et al.* (2022), Araújo *et al.* (2020) and Queiroz *et al.* (2023) evaluated the use of nitrogenous extracts from



soybeans, cowpeas and rice bran as supplements to optimize the mead fermentation process and obtained promising results, demonstrating the potential of natural and easily obtained compounds, with increased ethanol production, greater cell viability, and high volumetric productivity.

3.2 CELLULAR IMMOBILIZATION

Yeast immobilization is defined as the physical confinement of intact cells to a region of space with conservation of biological activity. The use of these methodologies for alcoholic fermentation offers many advantages compared to the use of the conventional free yeast cell method and different immobilization systems have been proposed so far for different applications, such as in wine production (MORENO-GARCÍA, 2018).

The use of immobilized cells in fermentation has been widely addressed in research around the world as a strategy to resolve difficulties encountered during the process (PLESSAS *et al.* , 2007). Microorganism immobilization methods have gained attention in recent decades and are being successfully applied in the production of alcohols, organic acids, enzymes and in the food industry for wine and beer production (PEREIRA *et al.*, 2014). In the beverage industry, cell immobilization is also used to optimize clarification, with the aim of removing some steps of the process, such as filtration, and achieving easy removal of microorganisms (DENG *et al.* , 2019).

According to Silva *et al.* (2007), the method used for cell immobilization must not have adverse effects on the desired biocatalytic properties, must be safe and simple, require few steps and ingredients for its preparation, enable scale-up and be economical. As for the support used, it is desirable that it does not present toxicity to cells, has a high retention capacity, is resistant to chemical and microbial attack, has little sensitivity to mechanical conditions (shear stress), is environmentally safe or recyclable and has high diffusivity. of substrates and products (PRADELLA, 2001).

The immobilization conditions used will depend on the characteristics of the microorganism used as well as the conditions of the immobilization system,



and can generally only be established empirically (SANTOS, 2005; SARROUH, 2009). Microorganisms, notably *Saccharomyces cerevisiae*, can perform several multicellular modes of immobilization: adhesion, biofilm formation, filament formation, and flocculation. The beneficial effect of some of these behaviors on wine quality is widely known and is already applied industrially (MORENO-GARCIA, 2018).

According to Verbelen *et al.* (2006), the cell immobilization procedure on supports can be carried out in four ways: adsorption, covalent bonding, wrapping and containment in a barrier. According to Fregonesi (1998), the main method for immobilizing cells for ethanol production is by adsorption (attachment to the support). The advantages of immobilizing biocatalysts in this method are that immobilization can be done under mild conditions; reuse of the biocatalyst support is possible; a greater number of cells can be used on a support with a large surface area; allows continuous production for a long time; increased enzymatic stability and, consequently, productivity; ability to stop the reaction quickly and reduce the risk of contamination.

Cell immobilization by entrapment in a porous matrix is based on the inclusion of cellular organisms within a rigid network, thus preventing cells from diffusing to the outside environment, simultaneously allowing the transfer of nutrients and metabolites (OLIVEIRA, 2011). The use of cell immobilization in calcium alginate has stood out, mainly due to its intrinsic characteristics, such as biocompatibility, porosity and ease of manipulation. Due to these properties, alginate is one of the most used supports as a matrix for the entrapment and/or release of a variety of proteins and cells (DUARTE *et al.*, 2013).

Alginate has been the most studied natural polymer for cell immobilization due to its biocompatibility. Sodium alginate is a natural polysaccharide, mainly derived from brown algae (HERNANDEZ *et al.*, 2010). This polysaccharide is generally less affected by microbial attacks than other carbohydrates. It is biocompatible, a biodegradable compound without toxicity and has gelling capacity (SOUSA-DIAS *et al.*, 2021).



According to Carvalho *et al.* (2006), alginate gelation occurs quickly without drastic changes in temperature, pH and osmotic pressure, thus allowing the viability of the immobilized microorganism to be preserved, in addition to being cheap and easily found. The calcium alginate gel immobilization procedure consists of adding a suspension of calcium alginate with cells to a solution containing divalent cations (for example, calcium chloride), resulting in the formation of *pellets* with immobilized cells, as the ions calcium form cross-links with the alginate, increasing its viscosity until gel formation (SANTOS, 2008).

According to Pradela (2001), the materials most used as supports in adsorption immobilization are inorganic materials and synthetic polymers. In addition to sodium alginate, which is a widely used material, the literature cites alternative materials used in this technique, such as sugar cane stalks (VASCONCELOS, 1998), corn cobs (SÁ, 2003), coconut stalks and bamboo fiber (SANTOS, 2008).

Many studies show the advantages of applying cells immobilized in alginate in studies on alcoholic fermentation. Nikolic *et al.* (2008), studied ethanol fermentation in corn with yeast immobilized in calcium alginate, obtaining greater tolerance to ethanol and no product inhibition with immobilized cells. Vilela *et al.* (2013), studied S26 cells immobilized in chitosan-alginate double-layer spheres with the aim of reducing the volatile acidity of wine, achieving a reduction in acidity from 28 to 62% in 72 and 168 h respectively, with a reduction in the content of ethanol (0.7%).

The use of cells immobilized in calcium alginate has also been researched in the production of mead, Pereira *et al.* ., 2014 evaluated the effect of immobilizing cells from two yeast strains (QA23 and ICV D47) in a fed-batch system using immobilization in alginate (Calcium alginate) or bilayers (alginate-chitosan), and found that the majority of aromatic meads were those produced by immobilized cells and higher concentrations of viable cells were achieved in immobilized systems. Studies with cells immobilized in Ca alginate (QURESHI; TAMHANE, 1986) or pectate (NAVRÁTIL *et al.*, 2001) in the production of mead



showed that the duration of fermentation was reduced or the fermentation rate increased, respectively.

Sousa-Dias *et al.* (2021), studied the immobilization of *Saccharomyces cerevisiae* in the production of mead, in sodium alginate, and its reuse in five successive fermentations, and showed that the immobilization of cells did not significantly influence some process parameters, such as the yield of sugars/ethanol consumed, the alcohol content, the pH and the total acidity. There was also a decrease in SO₂ production.

Immobilization involves the entrapment of living cells in a rigid network that allows the diffusion of substrates and products, in addition to making the growth and maintenance of living cells possible (DIVIÈS; CACHON, 2005). Microorganism cells immobilized in a hydrogel matrix are protected from adverse environmental conditions, such as pH, temperature, acidic solvents and inhibitors (KOCHER; KALRA; PHUTELA, 2006).

The most studied methods for yeast immobilization include the use of natural supports (pieces of fruit), organic supports (alginate), inorganic supports (porous ceramics), membrane systems and multifunctional agents (MORENO-GARCÍA, 2018). Specialized literature has cited that the entrapment of microorganisms by a gel is the most used immobilization technique, with calcium alginate being one of the most used supports. Another technique consists of cellular adsorption on natural fibers, such as sugar cane bagasse (BATISTA, 2005). Alginate is a cheap material and relatively easy to find, in addition, another factor that makes its use viable is the ease and speed in preparing large quantities of pellets for immobilization (BATISTA *et al.*, 1999; ORIVE *et al.*, 2002). Several conditions can influence cell immobilization, such as the matrices used, the immobilization method, the initial cell concentration and the culture medium.

Yeast immobilization offers numerous opportunities for industrial fermentation processes, such as in beer, cider or wine/mead production. This technology aims to confine intact and active yeast cells to a specific region, thus increasing cell density, allowing the increase and prolongation of the production of certain metabolites (e.g. aromatic compounds), allowing for better control and



stability of the yeast strain, providing cellular protection against shear forces and allowing cell recovery and reuse (MORENO GARCÍA, 2018; BAPTISTA *et al.* , 2006; NEDOVIC *et al.* , 2015).

The immobilization of microbial cells for fermentation has been developed to eliminate inhibition caused by high concentration of substrate and product and also to increase the productivity and yield of ethanol production (NAJAFPOUR; YOUNESI; ISMAIL, 2004). Immobilization done correctly tends to increase the fermentative activity of the yeast, promoting the adaptation of the cells to the environment. In cell immobilization systems, a greater mass of cells per unit of working volume is obtained, when compared to systems that use free cells as a principle (WILLAERT; NEDOVIC, 2006).

There are many advantages in using immobilized yeasts in relation to the use of free yeasts, such as: their repeated use resulting in savings in industrial processes, elimination of the operation of removing free cells from the product, increased stability and cellular metabolism, resulting in better yield in ethanol and less time spent transforming sugar into alcohol (ALMONACID *et al.* , 2012; DUARTE *et al.* , 2013; ZHOU, LI, LI, 2010). Cell immobilization also allows easier handling of cells and facilitates clarification of the final product (PEREIRA *et al.* , 2004). One of the great advantages of this technique is the ease of separation and recovery of the biocatalyst, which makes it possible to use it in systems conducted in repeated batches. This way of conducting processes allows the elimination of the inoculum preparation stage, the recovery and reuse of cells and greater productivity and yields (CARVALHO, 2000; CARVALHO; CANILHA; SILVA, 2006). The cell immobilization technique, in addition to resulting in greater productivity and yields, allows operation in continuous processes without “washout” occurring and facilitates the control of the properties of the medium and the maintenance of bioreactors since it does not cause problems of adhesion and obstruction of electrodes and tubes (DERVAKOS; WEBB, 1991; PARK; CHANG, 2000; KUMAR; GAYEN, 2011).

The main disadvantage of this technique is related to possible obstacles in the transport of substrates and products and limitations in oxygen transfer.



Furthermore, the matrix used can rupture due to cell growth and gas evolution, the presence of non-gelling ions, mainly Mg, Na or K, and the presence of chelating agents (lactates, citrates or phosphates) (DRICHOUTIS; NERANTZES; LIOUNI, 2007). However, these limitations can be overcome by using the most appropriate method, immobilization support and type of bioreactor (CARVALHO, 2000; SARROUH, 2009).

The development of new cell immobilization techniques as well as the improvement of existing techniques together with the development of new materials with potential for use as support have enabled processes conducted with immobilized cells to be carried out in adverse pH, asepsis and agitation conditions. (WANG; YU; CHANG, 2005; COVIZZI 2007).

3.3 CELL REUSE

Classical fermentations can be carried out by reusing *S. cerevisiae* yeast cells, thus avoiding the costs of additional raw material consumption and the demand for longer fermentation times related to the propagation of the inoculum (MORAIS, 2013). Yeast metabolism results from fundamental processes of fermentation, catabolism and anabolism, which must be mastered in the mead production process and for the reuse of biomass. While catabolism promotes the degradation of the substrate for ethanol production, anabolism promotes cellular synthesis.

In the context of a fermentation process, effective control of parameters, such as the choice of appropriate strains, the physical-chemical conditions of the inoculum, the acclimatization of the yeast in the must and the fermentation time, are crucial to model yeast metabolism in the scenario productive. The metabolism of these microorganisms results from essential fermentation processes, involving both catabolism, responsible for the degradation of the substrate for the production of ethanol, and anabolism, which promotes cellular synthesis. Mastering these processes is essential both in the production of mead and in the efficient reuse of biomass.



Generally, mead production is carried out by free cells of *Saccharomyces cerevisiae*, however, immobilized cells can both increase the fermentation rate and reduce operational costs as they can be used constantly in fermentations at ever higher concentrations (MORAIS, 2009; MARTINS, 2020). Mead production in Brazil is still in its infancy, predominantly concentrated on research and artisanal production. Only in 2016, the first industrial-scale mead production was inaugurated in the country, located in Sorocaba-SP (INVESTSP, 2021). Although old, alternatives are still being studied to improve and standardize the mead fermentation process (SCHWARZ, 2018). This is due to the difficulty in standardizing the honey used in production, influenced by several factors, such as the quality of the nectar, the type of flora and the flowering period.

The practice of reusing biomass is widely used globally in the production of biofuels, resulting in savings, production stability, control of physical-chemical characteristics and process variables, increased productivity, cost reduction and minimization of industrial waste (MORAIS, 2009) . In Brazil, where Melle-Boinot ethanol production methods (batch) or continuous processes prevail, cell recycling is adopted in all fermentation cycles throughout the sugarcane harvest (MARQUES and SERRA, 2004). Biomass represents approximately 30% of the energy consumed in developed countries, and is therefore a significant source of renewable energy that requires constant study and modernization to ensure efficient and sustainable use (HALL et al., 2005, cited by ACORSI, MORAES and OLIVO , 2013).

In the context of immobilized cells, encapsulation offers known advantages, such as the possibility of reuse in various operations. However, one of the main uncertainties concerns the number of fermentative cycles in which yeast maintain cell viability when immobilized (BRITO, 2019). In this way, the production of mead with reuse of biomass in free cells can represent a technological innovation for honey producers, opening the way for a new market niche.

The study of biomass reuse in mead production not only contributes to reducing the production of initial cellular biomass, accelerating the conversion of

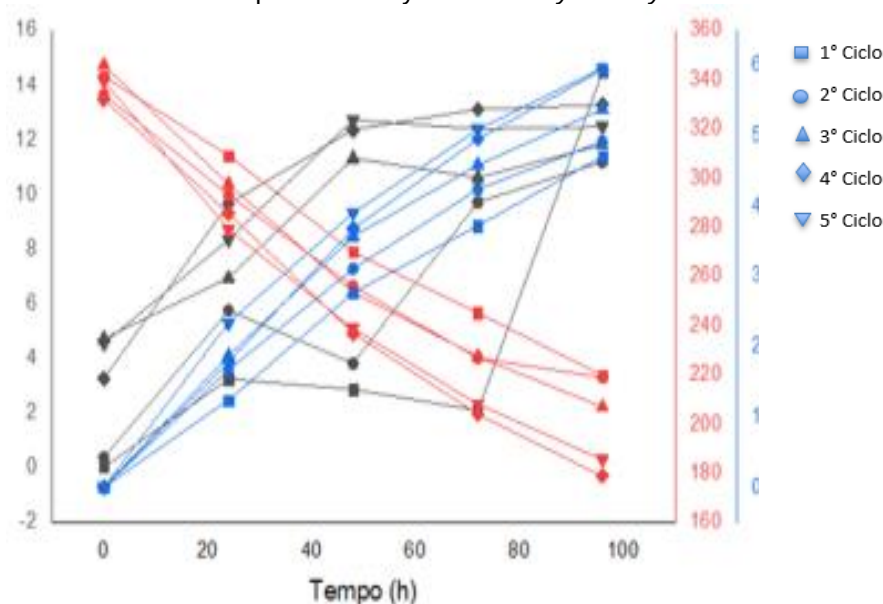


substrate into product and reducing operational costs, but is also crucial for evaluating metabolic changes during successive cycles of fermentation, aiming at the consistent reproduction of the process. Therefore, it is imperative to understand the behavior of different strains in relation to the osmotic, nutritional, thermal and alcoholic variables to which they are subjected, as well as the fermentative techniques used, which vary between fermentation with free or immobilized cells (GOMES, 2010; PEREIRA et al. , 2013; FERRAZ, 2015).

Furthermore, it is necessary to consider the recovery of dead cells and identify variables that may influence cell inviability, cell density or process conditions. The high cellular concentration not only minimizes the effects of inhibition by the product, but also increases resistance to cellular stress factors, preventing defects during the process and in the final product, which could impact sensorially, consequently improving the quality of the final product (CRUZ et al., 2004; MORAIS, 2009; TONIATO, 2013; PEREIRA et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2020; MILESKI, 2016).

Figure 2 shows the behavior of the fermentative kinetics for the production of mead in 5 successive batches using free cells.

Figure 2: Comparative graph of fermentative kinetics between the 5 fermentative cycles during mead production by *Saccharomyces bayanus*.



Legend: the black, red and blue lines refer, respectively, to $[x]$ (g/L), $[S]$ (g/L) and $[Ethanol]$ (g/L).
Source: The author, 2023.

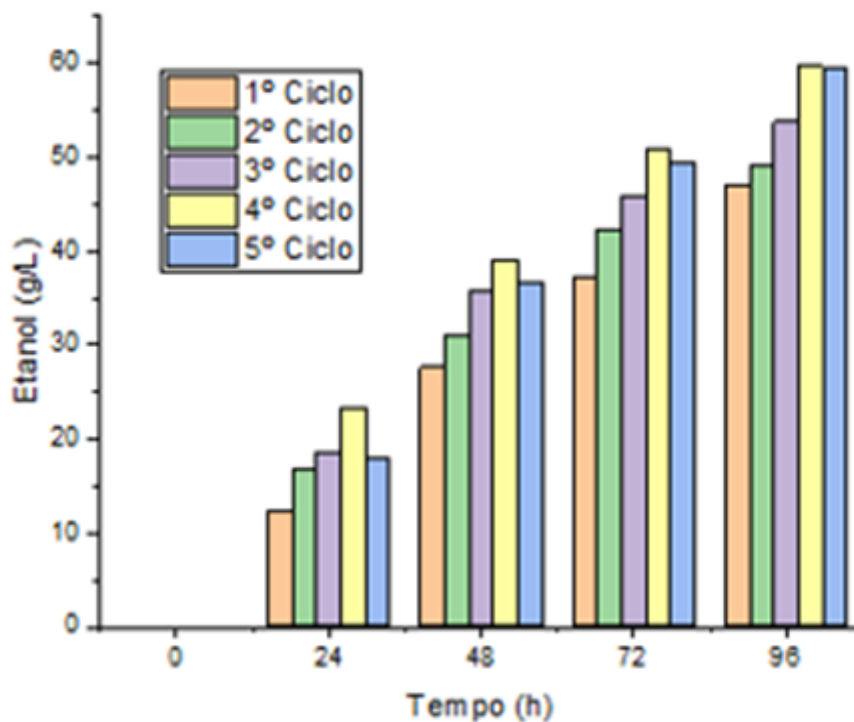


Exploring this approach, a study was conducted for the production of mead using biomass recovered between successive cell-free fermentation cycles. The objective was to evaluate the feasibility of this technique, its characteristics and determine the number of cycles necessary to reach the desired alcohol content, in addition to enabling the recovery of usable biomass. Fermentation trials were conducted to dynamically analyze the variables of the fermentation process, considering biomass production, substrate consumption and ethanol production over time. Cell viability and yield were also evaluated, observing the kinetic parameters in each fermentation cycle, such as ethanol productivity and substrate conversion factors into ethanol and biomass.

The meads produced in the EL1-30 tests showed a soluble solids content of 20.3 to 16.5 °Brix in 96 hours of fermentation from the 1st to the 5th cycle, respectively. Oliveira *et al.* (2020), studying traditional mead with musts of 30 °Brix, at the end of fermentation that lasted 15 days, they found final values for the soluble solids content of 26 °Brix. This difference may be associated with the yeast used, however, it is possible that its efficiency can be attributed to the reuse of biomass (Figure 3).



Figure 3: Comparative graph of ethanol production between the 5 fermentative cycles during mead production by *Saccharomyces bayanus*.

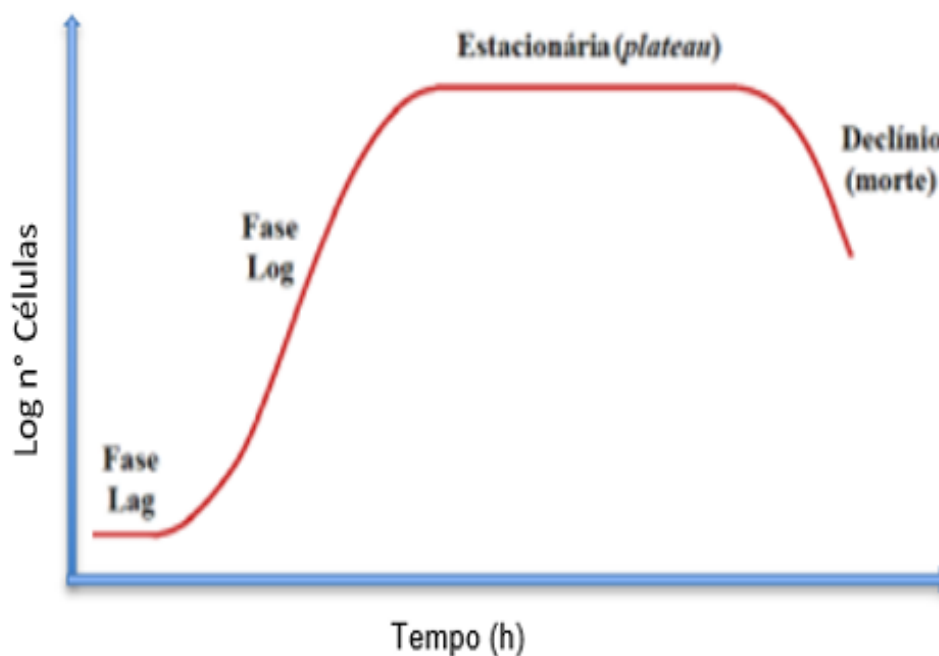


Source: The author, 2023.

As the cycles occur, there is an increase in ethanol production and a reduction in the lag phase (Figure 2). Mead is obtained in 72 hours in the 1st fermentation cycle (30g/L, equivalent to 4% v/v recommended by current legislation) and is brought forward to 48 hours from the 2nd fermentation cycle and continues to increase in subsequent cycles. In the case of mead, a drink that stands out for not meeting the standards of a "standardized drink", this characteristic represents an advantage, as it results in a drink that is always unique and exclusive. This is due to the unique characteristics of each production of the main raw material. To better understand what happens, let's analyze the growth curve of free cells in closed systems in figure 4.



Figure 4: Logarithmic graph of the number of cells vs time (h). Cell growth curve in a closed system during mead production by *Saccharomyces bayanus*.



Source: The author, 2023.

During the fermentation process, yeasts go through four distinct phases, as shown in the growth curve graph in closed systems. In the preliminary phase, the yeasts go through the lag phase, characterized by the adaptation of the yeast to the must. During this period, there is no increase in the number of cells, but there is synthesis of inductive enzymes, since the cells are lacking several essential coenzymes and cellular constituents necessary for the use of nutrients present in the environment (HISS, 2001; MANOEL, 2017, PAIXÃO, 2021). Thus, the existence or prolongation of the lag phase can be attributed to factors such as cellular trauma resulting from thermal shocks and radiation, chemical agents or the transition from a nutrient-rich environment to a poorer one, which requires a new production of enzymes. Therefore, one of the notable advantages of recycling cells is the reduction of the lag phase, resulting in an increase in the productivity of the process by acclimatizing the cells to the must, the efficiency in substrate consumption and a reduction in the time to obtain the products of interest.



4 CONCLUSION

Mead is a product that has a high market value, being an economically viable activity and a worldwide drink. In addition to the traditional version of dry or soft mead, obtained by fermenting honey must and water, there are also several other products added with fruits, spices, nitrogenous extracts, pollen, herbs, tree barks, etc. Each process further enriches the market value of the final product, providing very particular organoleptic characteristics. Honey is poor in nutrients essential for yeast growth, making it necessary to supplement the must as a way of optimizing the fermentation process and increasing productivity. To optimize fermentation, the selection of the best yeast, supplementation and must formulation, study of fermentative parameters, development of new methods and definition of identity and quality standards of the final product are considered. Various scientific research has been carried out worldwide, demonstrating promising results in optimizing the fermentation process for mead production, obtaining drinks with excellent sensorial quality, time-reducing processes and high productivity rates.

THANKS

We would like to thank the Postgraduate Program in Biotechnology (PPGBiotec) at the State University of Feira de Santana (UEFS), CAPES (Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel) and FAPESB (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia).



REFERENCES

ALMONACID, SF *et al* . A comparative study of stout beer batch fermentation using free and microencapsulated yeasts. *Food Bioprocess Technology* , vol. 5, p. 750–758, 2012.

AMORIM, TS, LOPES, S. DE B., BISPO, JAC, BONAFE, CFS, DE CARVALHO, GBM, & MARTÍNEZ, EA Influence of acerola pulp concentration on mead production by *Saccharomyces cerevisiae* AWRI 796. *LWT* , v. 97, p. 561–569, 2018.

ANGIOLLETO, E. *Isolation and characterization of yeasts for cider production* . Santa Catarina, RS, 2013.

ANNUNCIATION, AS; MARTINS, JAB; AMORIM, TS; DE CARVALHO, GBM; MARTINEZ, EA Tamarind pulp (*tamarindus indica* L.) in the production of mead. *Brazilian Journal of Agrotechnology*, v. 7, no. 2, p. 441-445, 2017.

ARAÚJO, GS; GUTIÉRREZ, MP; SAMPAIO, KF; SOUZA, SMA; RODRIGUES, RCLB; MARTÍNEZ, EA Mead Production by *Saccharomyces cerevisiae* Safbrew T-58 and *Saccharomyces bayanus* (Premier Blanc and Premier Cuvée): Effect of Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) Extract Concentration. *Appl Biochem Biotechnol ogy*, 2020.

ARAÚJO, G.S.; SAMPAIO, K.F.; SANTOS, F.S.; DE CARVALHO, G.B.M.; SOUZA, S.M.A.; MARTINEZ, E.A. Biochemical, physicochemical and melissopalynological analyses of two multifloral honey types from Brazil and their influence on mead production. *Journal of Apicultural Research*, v.60, n.5, p. 784-796, 2021. DOI: [10.1080/00218839.2020.1828236](https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1828236)

AQUARONE, E. *et al. Biotecnologia Industrial - Biotecnologia na Produção de Alimentos*. 1ª. ed. São Paulo. SP: Blucher, v. IV, 2001.

AL-MAMARY, M. A.; AL-MEERI, A.; AL-HABORI, M. Antioxidant activities and total phenolic of different types of honey. *Nutrition Research*, v. 22, n. 9, p. 1041-1047, Aug. 2002.

ALMEIDA, TB; QUEIROZ, ELQ; CANETTIERI, EV; RODRIGUES, RCLB.; MARTINEZ, EA Mead Production Technology: process stages and fermentation conditions – part 2. In: RIBEIRO, MJB (Org.) *Scientific and Technological Studies in Biotechnology* . Aracaju: Backup Books Editora. 2020, vol. 1; P. 215-235.

BAPTISTA, C.; CÓIAS, JMA; OLIVEIRA, ACM; OLIVEIRA, NMC; ROCHE, JMS; DEMPSEY, MJ Natural immobilization of microorganisms for continuous ethanol production. *Enzyme Microbiol. Technol* . v. 40, p. 127–131, 2006. Doi: 10.1016/j.enzmictec.2005.12.025

BATISTA, MA; CARVALHO, W.; SILVA, SS *Immobilization of Candida guilliermondii cells in calcium alginate gel* : Effect of curing time on cell viability.



In: Scientific Initiation Symposium, 3, 1999, Marília, Brazil. Marília: UNIMAR, p. 150, 1999.

, M.A. *Study of the immobilization of Saccharomyces cerevisiae cells in calcium alginate gel in the alcoholic fermentation process* . Thesis (Master's degree). Federal University of Uberlândia, Uberlândia, 2005.

BERRY, B. The global mead market: opportunities for Canadian mead exporters. *Agriculture and Agri-Food Canada* , 2007.

BRAZIL, Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA). *Ordinance No. 64, of April 23, 2008* . Identity and quality standards for fermented alcoholic beverages: fruit fermented, cider, mead, sugarcane fermented, fruit fermented liqueur, fruit fermented compound and sake. 2008.

BRITO, JA *Analysis of the use of yeast immobilized in calcium alginate gel in successive fermentations of apple juice* . 2019, 35f. Course completion work (Food technology). Federal Technological University of Paraná. Ponta Grossa, 2019.

CARNEIRO E SILVA, AK; ANNUNCIATION, AS, CANETTIERI, EV; BISHOP, JA; MARTINEZ, EA Reuse of cells in meat production using Tamarindus indica pulp as an unconventional supplement. *European Food Research and Technology* . v. 248, p 1-13, 2022. 10.1007/s00217-022-04068-x.

CARVALHO, W. *Study of the immobilization of Candida guilliermondii FTI 20037 to obtain xylitol in hemicellulosic hydrolyzate from sugarcane bagasse* . 108 p. Dissertation (Master's) – Faculty of Chemical Engineering of Lorena, 2000.

CARVALHO, W.; CANILHA, L.; SILVA, SS Use of Immobilized Biocatalysts: An alternative for conducting bioprocesses. *Rev. Anal* . n. 23, p.60–70, 2006.

CASELLAS, GB *Effect of low temperature fermentation and nitrogen content on wine yeast metabolism* . 2005. 240 f. Thesis (Doctorate in Biochemistry and Biotechnology) - Universitat Rovira i Virgili, Barcelona, Spain, 2005.

COVIZZI, LG *Selection of a Synthetic Support to immobilize Botryosphaera rhodina cells and comparison of laccase production by free and immobilized cells* . 90 p. Dissertation (Master's) – São Paulo State University (Unesp), 2007.

CRUZ, ML; SILVA, FTM; RAMINHO, MLF; CASTRO, ALM; RESENDE, MM; RIBEIRO, EJ Viability study of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* Y904 using a repeated batch fermentation process. *XX Brazilian Congress of Chemical Engineering*. October 19th to 22nd, 2014. Florianópolis/SC.

CUENCA, M. *et al.* Monitoring mead fermentation by proton transfer reaction mass spectrometry and mid-infrared probe. *European Food Research and Technology* , vol. 242, no. 10, p. 1755-1762, 2016.



CZABAJ, S.; KAWA-RYGIELSKA, J.; KUCHARSKA, AZ; KLIKS, J. Effects of mead worts heat treatment on the mead fermentation process and antioxidant activity. *MPDI Molecules* , vol. 22, no. 803, 2017.

DENG, Z.; *et al* . Immobilization of pectinases into calcium alginate microspheres for fruit juice application. *Food Hydrocolloids* , vol. 89, p. 691-699, 2019.

DERVAKOS, G.A.; WEBB, C. On the merits of viable-cell immobilization. *Biotechnology Advertisements*, v.9, p.559-612, 1991.

DIVIÈS, C.; CACHON, R. *Wine production by immobilised cell systems*. In: V. NEDOVI, C; R. WILLAERT. Applications of cell immobilisation biotechnology. Netherlands: Springer, p. 285-293, 2005.

DRICHOUTIS, P.; NERANTZES, E.T.; LIOUNI, M. Continuous production of wine in a tower fermentor using entrapped yeast cells in double layer alginate-chitosan beads. *e-J. Sci. Technol.*, v.6, p.51–60, 2007.

DUARTE, J. C.; RODRIGUES, J. A. R.; MORAN, P. J. S.; VALENÇA, G. P.; NUNHEZ, J. R. Effect of immobilized cells in calcium alginate beads in alcoholic fermentation, *AMB Express*, v. 3, n. 31, p. 3-8, 2013.

FERRAZ, FO *Studies of fermentative parameters, physicochemical and sensory characteristics of mead* . Thesis (Doctorate) – University of São Paulo, Lorena, 2015.

FONSÊCA, ARP *Reuse of immobilized cells in the production of mead* . 81p. Dissertation (Master's) – Polytechnic Institute of Bragança, Bragança, 2013.

FREGONESI, A. , *Adhesion of cells of Saccharomyces sp. in inorganic materials for ethanol production* . 1998. Dissertation (Master's in Chemistry) – State University of Campinas, Campinas, SP.

GOMES, TMC *Mead production : effect of fermentation conditions*. 74 p. Thesis (Master's degree). Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, 2010.

GOMES, T.; BARRADAS, C.; DIAS, T.; VERDIAL, J.; MORAIS, JS; RAMALHOSA, E.; ESTEVINHO, LM Optimization of mead production using response surface methodology. *FoodChem. Toxicol* ., v.59, p.680–686, 2013.

GRAND VIEW RESEARCH, *Market analysis report* . Honey Wine Market Size, Share & Trends Analysis Report by Application (Fruits, Herbs, Spices), By Distribution Channel (On trade, Off trade), By Region (North America, Asia Pacific, Europe, MEA), And Segment Forecasts, 2019 – 2025. 2019. 80p.

GUERRA, CC Red Wine. In: VENTURINI FILHO, W. G (Coord.). *Alcoholic drinks : science and technology*. São Paulo: Blucher, 2010. chap. 11, p 209-233

GUPTA, JK; SHARMA, R. Production technology and quality characteristics of mead and fruit-honey wines: A review. *Nat. Prod. Rad* ., v. 8, p. 345–355, 2009.



HERNÁNDEZ, RM; ORIVE, G.; MURUA, A.; PEDRAZ, JL Microcapsules and microcarriers for in situ cell delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* _ v.62, p.711–730, 2010.

HISS, H. Kinetics of fermentative processes. In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U. of A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. Biochemical engineering. São Paulo: *Edgard Blücher* , 2001.

IGLESIAS, A.; CHOUPINA, A.; PASCOAL, A.; CARVALHO, CAL Developments in the fermentation process and quality improvement strategies for meat production. *Molecules*, v.19, n.8, p. 12577–12590, 2014.

INVESTSP. *São Paulo investment and competitiveness promotion agency*. Sorocaba has the first mead factory in the country . São Paulo - SP, 2021. Available at <https://www.investe.sp.gov.br/noticia/sorocaba-tem-a-primeira-fabrica-de-hidromel-do-pais/> in Jul. 2021.

JOSHI, V.; ATTRI, B.; GUPTA, J.; CHOPRA, S. Comparative fermentation behavior. *Indian J. Hortic* .,v. 47, pp.49–54, 1990.

KEMPKA, AP; MANTOVANI, GZ Production of mead using honeys of different qualities. *Brazilian Magazine of Agroindustrial Products* , v.15, n.3, p.273-281, 2013.

KOCHER, GS; KALRA, KL; PHUTELA, RP Comparative production of sugarcane vinegar by different immobilization techniques . *Journal of the Institute of Brewing*, v.112, n.3, p. 264-266, 2006.

HALL, DO; HOUSE, JI; SCRASE, I. Use of biomass for energy production in Brazilian industry. Campinas/SP: Ed. UNICAMP, 2005, 28 p. apud ARCOSI, RL; MORAES, FF DE; OLIVO, JE Study of batch alcoholic fermentation of inverted honey . *VIII EPCC - Cesumar International Scientific Production Meeting* . ISBN 978-85-8084-603-4. UNICESUMAR. Maringá/PR. October 2013.

HI, M.; SAIGUSA, N.; TERAMOTO, Y. Production and antioxidative activity of mead made from honey and black rice (*Oryza sativa* var. Indica cv. Shiun). *Journal of Institute Brewing* , v.115, p. 238–242, 2009.

KUMAR, M.; GAYEN, K. Developments in biobutanol production: new insights. *Applied Energy* , v.88, p.1999-2012, 2011.

MANOEL, EA *Kinetics of fermentation processes* . Department of Pharmaceutical Biotechnology. Faculty of Pharmacy/CCS - UFRJ. 2017.

MARQUES, TA; SERRA, GE Study of cell recycling in the biological production of ethanol. *Science. Technology. Aliment* ., Campinas, v.24, p.532-535, Oct.-Dec. 2004.

MARTINS, Hevelynn Franco. *Full use of organic yellow passion fruit (Passiflora edulis f. flavicarpa) in the production of mead* . Dissertation (master's degree) -



State University of Feira de Santana - BA. Postgraduate program in biotechnology, 2020.

MASCARENHAS, AS; AMORIM, TS; ANNUNCIATION, AS, ALBINATI, FL; MARTINEZ, EA Mead production: effect of pineapple pulp concentration (*Ananas mill*). *Brazilian agrotechnology magazine*, v. 7, no. 2, p.436 - 440, 2017.

MATTIETTO, RA; LIMA, FCC; VENTURIERI, GC; ARAÚJO, AA *Technology for obtaining artisanal sweet mead*. Embrapa. Technical Communication 170, p.1-5, 2006.

MENDES-FERREIRA, A.; COSME, F.; BARBOSA, C.; FALCO, V.; INES, A.; MENDES-FAIA, A. Optimization of honey-must preparation and alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* for meat production. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 144, no. 1, p. 193-198, 2010.

MILESKI, JPF *Production and characterization of mead using different strains of Saccharomyces yeast*. Dissertation (Master's) – Federal Technological University of Paraná, Londrina, 2016.

MORAIS, MR *Ethanol production in a synthetic medium with yeast recovery between successive batches*. Postgraduate program in biotechnology. Paulista State University. Araraquara-SP. 2009.

MORAIS, MR *Study on interactions between Saccharomyces cerevisiae yeasts in fed-batch fermentations at high temperatures*. 2013. 132 f. Thesis (doctorate) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Institute of Chemistry of Araraquara, 2013.

MORALES, EM; ALCARDE, Valmir Eduardo; ANGELIS, Dejanira de Franceschi. Mead features fermented by *Saccharomyces cerevisiae* (lalvin k1-1116). *African Journal of Biotechnology*, vol. 12, no. 02, p. 199- 204, 2013.

MORENO-GARCÍA, J.; GARCÍA- MARTÍNEZ, T. ; MAURICIO, JC; MORENO, J. Yeast Immobilization Systems for Alcoholic Wine Fermentations: Current Trends and Future Perspectives. *Front Microbiol*. v.15, n.9, p.241, 2018. doi: 10.3389/fmicb.2018.00241.

MORSE, R. A. *Mead honey wine: history, recipes, methods and equipment*. Ithaca: Wicwas Press, 1980. 127p.

NAJAFPOUR, G.; YOUNESI, H.; ISMAIL, K.S.K. Ethanol fermentation in an immobilized cell reactor using *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresource technology*, v. 92, n. 3, p. 251-260, 2004.

NAVRÁTIL, M.; STURDÍK, E.; GEMEINER, P. Batch and continuous mead production with pectate immobilised, ethanol-tolerant yeast. *Biotechnol. Lett.*, v.23, p.977–982, 2001.



NEDOVIC, V.; GIBSON, B.; MANTZOURIDOU, T. F.; BUGARSKI, B.; DJORDJEVI, C.V.; KALUŠEVIC, A. *et al.* Aroma formation by immobilized yeast cells in fermentation processes. *Yeast*, v. 32, p. 173–216, 2015. doi: 10.1002/yea.3042.

NIKOLIĆ, S.; MOJOVIĆ, L.; RAKIN, M.; PEJN, D.; NEDOVIĆ, V. Effect of different fermentation parameters on bioethanol production from corn meal hydrolyzates by free and immobilized cells of *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*. *J. Chem. Technol. Biotechnol* ogy, v.84, p.497–503, 2008.

NOGUEIRA, A. *et al.* Analysis of physical-chemical quality indicators of Brazilian cider. *Seminar: Agricultural Sciences*, v. 24, p. 289–298, 2003.

OLIVEIRA, FP *Evaluation of the acclimatization of Pichia stipitis to the hemicellulosic hydrolyzate of sugarcane bagasse and hierarchy of the toxicity of cellular inhibitors*. 141p. Dissertation (Master's) - Federal University of Rio de Janeiro (UFJR).

OLIVEIRA, IV; OKANEKU, BM ; ROLIM , CS DOS S.; ARAUJO, DL; ROLIM, L. DO N.; RODRIGUES, EC; SANTOS, WG DOS. Production and characterization of sweet mead. *Braz. J. of Develop* ., ISSN 2525-8761, Curitiba, v. 6, no. 3, p. 11176-11191, Mar. 2020.

ORIVE, G.; PONCE, S.; HERNÁNDEZ, RM; GASCÓN, AR; IGARTUA, M. & PEDRAZ, JL Biocompatibility of microcapsules for cell immobilization elaborated with different types of alginates. *Biomaterials*, v.23, p. 3825-3831, 2002.

PAIXÃO, GSA *Strategies to improve mead production: type of honey, natural supplements, yeast and temperature*. Thesis (Doctorate) - State University of Feira de Santana. Postgraduate program in Biotechnology, 2021.

PARK, J.K.; CHANG, H.N. Microencapsulation of microbial cells. *Biotechnology Advances*, v.18, p.303-19, 2000.

PEREIRA, A.P.; DIAS, T.; ANDRADE, J.; RAMALHOSA, E.; ESTEVINHO, L.M. Mead production: Selection and characterization assays of *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Food Chem. Toxicol.*, v.47, p. 2057–2063, 2009.

PEREIRA, A. P.; MENDES-FERREIRA, A.; OLIVEIRA, J.M.; ESTEVINHO, L. M.; MENDES-FAIA, A. High.cell-density fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* for the optimisation of mead production. *Food Microbiology*, v.33 p.114-123, 2013.

PEREIRA, A.P.; MENDES-FERREIRA, A.; OLIVEIRA, J.M.; ESTEVINHO, L.M.; MENDES-FAIA, A. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* cells immobilisation on mead production. *LWT - Food Science and Technology*, v.56, p. 21-30, 2014.

PIATZ, S. *The complete guide to making mead*. 1. ed. USA: Voyageur Press, v. 1, 2014.



PLESSAS, S.; BEKATOROU, A.; KOUTINAS, A. A.; SOUPIONI, M.; BANAT, I. M.; MARCHANT, R. Use of *Saccharomyces cerevisiae* cells immobilized on orange peel as biocatalyst for alcoholic fermentation. *Bioresour. Technol.* v. 98, p. 860–865, 2007.

PRADELLA, J.G.C., 2001, “Reatores com células imobilizadas”. In: SCHMIDELL, E.A., LIMA, U.A., AQUARONE, E., BORZANI, W., *Biotecnología industrial vol 1- Ingeniería bioquímica vol. 2*, 1 ed., cap. 16, São Paulo, Brasil, Editora Edgard Blücher Ltda.

QUEIROZ, E.L.; ALMEIDA, T.B.; SOUZA, S.M.A., MARTINEZ, E.A. Melomel Production by *Saccharomyces bayanus* Using Hydrolyzed Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) Pulp, Pollen, and Rice (*Oryza sativa*) Bran Extract as Unconventional Supplements. *Industrial Biotechnology*, v.19, p. 151-162, 2023. 10.1089/ind.2023.0005.

QURESHI, N.; TAMHANE, D.V. Mead production by continuous series reactors using immobilized yeast cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v.23, p.438–439, 1986.

RAMALHOSA, E.; GOMES, T.; PEREIRA, AP; DIAS, T.; ESTEVINHO, LM Mead production: Tradition versus modernity . *Adv. Food Nutr. Res* , v. 63, p. 101–118, 2011.

RIVALDI, JD; SILVA, MM; COELHO, TC; OLIVEIRA, CT Characterization and sensory profile of meat produced by *Saccharomyces cerevisiae* IZ 888. *Brazilian Journal of Food Technology* , June 2009 .

ROLDÁN, A.; VAN MUISWINKEL, GCJ; LASANTA, C.; CARO, I. Influence of pollen addition on mead elaboration: Physicochemical and sensory characteristics. *Food Chem.*, v.126, p.574–582, 2011.

SÁ, MJP, 2003, *Ethanol production by yeast immobilized on corn cobs* ; M.Sc. Dissertation; Federal University of Alagoas; Maceió, Alagoas, Brazil.

SALANȚĂ, LC; BORZA, NE; TOFANĂ, M.; POP, CR; MUDURA, E.; MIHAI, M. Comparison of Ferments in the Process of Functional Beverage Making. *Food and Science Technology* , vol. 75, no. 01, p. 90- 92, 2018.

SAMPAIO, KF *Production of mead using soursop (Annona muricata L.) and cowpea (Vigna unguiculata L.) as supplements* . 2019. 131f. Dissertation (Master's in Biotechnology), Department of Biological Sciences. State University of Feira de Santana, Bahia, Brazil.

, A.M. *Alcoholic fermentation with yeast immobilized in bamboo stalks and coconut fiber* . 2008.Dissertation (Master's). Federal University of Alagoas.

SARROUH, BF *Study of the biotechnological production of xylitol in a fluidized bed reactor using sugarcane bagasse and immobilized cells* : Assessment of



operational parameters and economic viability. 185 p. Thesis (Doctorate) – Lorena School of Engineering EEL-USP, 2009.

SCHWARZ, LV *Hidromel: Nutritional supplementation, effect of yeast and characterization of “moscato-pyment”*. 2018. Dissertation (Master's) - University of Caxias do Sul - RS, Postgraduate program in biotechnology.

SILVA, JHV; JORDÃO FILHO, J.; RIBEIRO, MLG; SILVA, EL Effects of including jackfruit seed meal (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) in feed on production, yolk pigmentation and fecal moisture in quails. *Agricultural Science* , Lavras. v.31, n.2, p.523-530, 2007.

SRIDEE, W.; LAOPAIBOON, L.; JAISIL, P.; LAOPAIBOON, P. The use of dried spent yeast as a low-cost nitrogen supplement in ethanol fermentation from sweet sorghum juice under very high gravity conditions. *Electronic Journal of Biotechnology*, v. 14, n. 6, p.1-15, 2011.

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

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.

TONIATO, JULIANO. *Determination of the kinetic parameters of alcoholic fermentation on different substrates*. Postgraduate program in agronomy (Energy in agriculture) . Faculty of agricultural sciences at UNESP. Botucatu-SP Campus. Aug. 2013.

VARELA, C.; PIZARRO, F.; AGOSIN, E. Biomass content governs fermentation rate in nitrogen-deficient wine musts. *Applied and Environmental Microbiology* , vol. 70, no. 6, p. 3392-3400, 2004.

VASCONCELOS, JN de, 1998, *Alcoholic fermentation with yeast immobilized on sugarcane stalks*. D.Sc. dissertation, School of Chemistry, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

VERBELEN, P.J., DE SCHUTTER, D.P., DELVAUX, F., *et al.*, 2006, *Immobilized yeast cell systems for continuous fermentation applications*; Springer Science+Business Media B.V.

VILELA, A.; SCHULLER, D.; MENDES-FAIA, A.; CÔRTE-REAL, M. Reduction of volatile acidity of acidic wines by immobilized *Saccharomyces cerevisiae* cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* v.97, p.4991–5000, 2013.

WALKER, G. M. *Yeast Physiology and Biotechnology*. England: Wiley, 1998.

WANG, M.Y.; YU, Y.T.; CHANG, T.M.S. New method for preparing more stable microcapsules for the entrapment of genetically engineered cells. *Artificial Cells*



Blood Substitutes and Biotechnology, v.33, p.257-269, 2005.

WILLAERT, Ronnie; NEDOVIC, Viktor A. Primary beer fermentation by immobilised yeast—a review on flavour formation and control strategies. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, v. 81, n. 8, p. 1353-1367, 2006.

ZHOU, Z.; LI, G.; LI, Y. Immobilization of *Saccharomyces cerevisiae* alcohol dehydrogenase on hybrid alginate-chitosan beads. *International Journal Biological Macromolecules*, v. 47, n. 1, p. 21-26, 2010.

**APÊNDICE B - PROCESSO DE OBTENÇÃO DE AGUARDENTE MEL
UTILIZANDO POLPA DE JACA HIDROLISADA COMO SUPLEMENTO,
LEVEDURA IMOBILIZADA EM FIBRA DE JACA E PRODUTO OBTIDO
PELO MESMO.**

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2025 009382 0

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 14045546000173

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Av Transnordestina, s/n, Novo Horizonte, Caixa Postal 252 e294

Cidade: Feira de Santana

Estado: BA

CEP: 44036-900

País: Brasil

Telefone: (75) 3224-8355

Fax: (75) 3224-8036

Email: nit.uefs@gmail.com

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): Processo de obtenção de aguardente mel utilizando polpa de jaca hidrolisada como suplemento, levedura imobilizada em fibra de jaca e produto obtido pelo mesmo

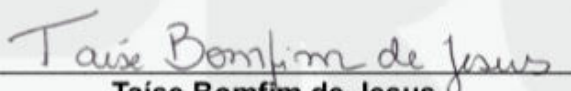
Resumo: A invenção de uma aguardente de mel obtida a partir de um hidromel suplementado com polpa de jaca (*Artocarpus Integrifolia* L) hidrolisada e extrato de farelo de arroz, utilizando leveduras imobilizadas em fibra de jaca (eixo central do fruto) durante o processo fermentativo. O produto contempla a área da Biotecnologia, com a produção de uma bebida fermento-destilada com uso de imobilização celular em suporte orgânico, visando o aproveitamento sustentável da jaca, um fruto ainda pouco utilizado em processos industriais.

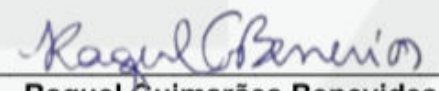
Figura a publicar: 2

CERTIFICADO

Certificamos que **EDINARA LACERDA QUEIROZ** apresentou o trabalho “**FIBRA DE JACA (ARTOCARPUS INTEGRIFOLIA L.) COMO SUPORTE NA IMOBILIZAÇÃO DE SACCHAROMYCES BAYANUS**”, na modalidade **PÔSTER**, no **V Simpósio de Biotecnologia PPGbiotec - UEFS**, no dia 29/08/2024, totalizando uma carga horária de **4 horas**.

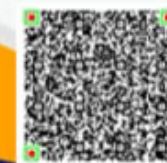
Feira de Santana - BA, 13 de novembro de 2024.


Taíse Bomfim de Jesus
Pró-Reitora de Extensão


Raquel Guimarães Benevides
Comissão Organizadora

Internet Site: www.pgdp.uefs.br SID: [49bZE09wtCB7OfJE0_Sglwsw_paBaHxtfWYiXskFAIQo](#) UID: 0052 Key: Yt8Na8

WWW.PROEX.UEFS.BR



DESENHOS

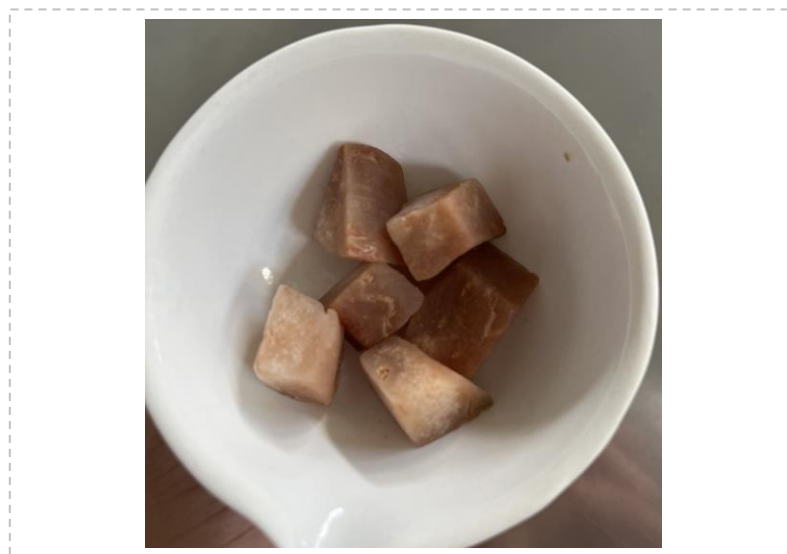


Figura 1

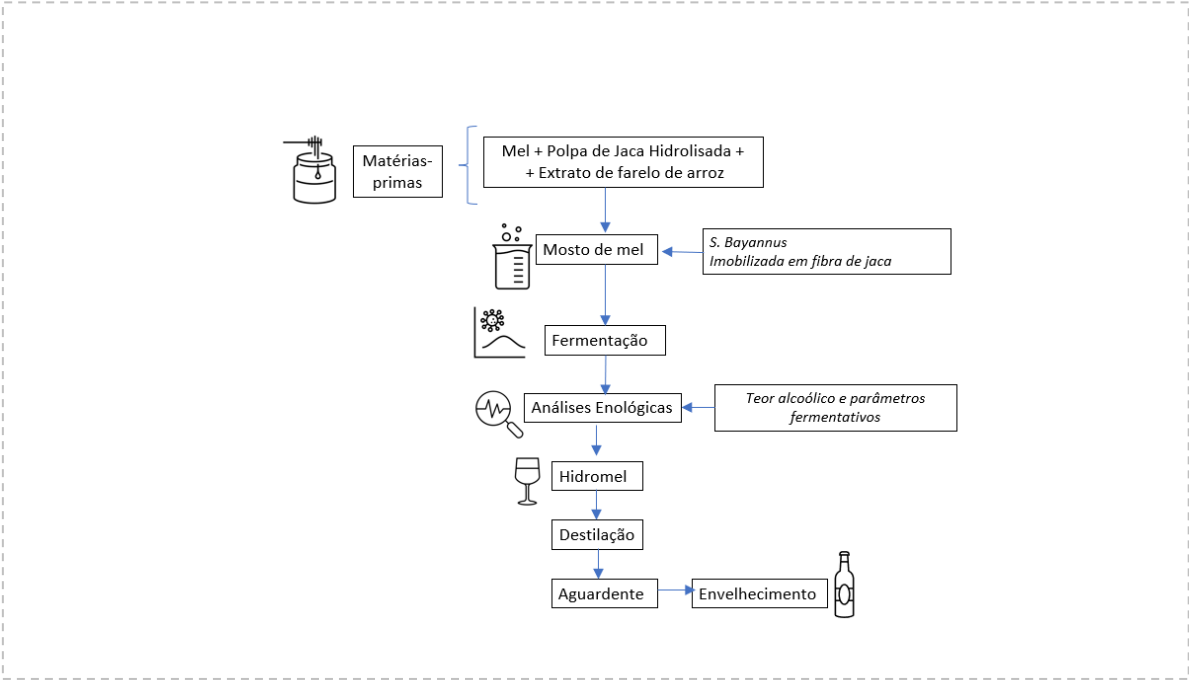


Figura 2

REIVINDICAÇÕES

1. PROCESSO DE OBTENÇÃO DE AGUARDENTE DE MEL UTILIZANDO POLPA DE JACA HIDROLISADA COMO SUPLEMENTO E LEVEDURA IMOBILIZADA EM FIBRA DE JACA E PRODUTO OBTIDO PELO MESMO, caracterizada por compreender as seguintes etapas:
 - Etapa 1: Adicionar a enzima numa concentração de 0,05% a 0,09% na polpa de jaca diluída em água (1:2) para hidrólise enzimática;
 - Etapa 2: Para realizar a hidrólise enzimática, aquecer a solução da Etapa 1 a 60°C durante um período de 60 a 100 min;
 - Etapa 3: Adicionar levedura liofilizada entre 0,1 e 0,2 g em 300 mL de uma solução de mel e água 30° Brix para a propagação celular durante 24 h em shaker;
 - Etapa 4: Centrifugar a solução da Etapa 3, descartar o sobrenadante, adicionar 0,5 mL de água destilada aos tubos e obter uma solução concentrada de leveduras em um único tubo.
 - Etapa 5: Adicionar uma faixa de 1 a 2 mL de solução concentrada de leveduras da Etapa 4 em 100 mL de NaCl;
 - Etapa 6: Adicionar 10 g do suporte de fibra de jaca em formato cúbico nas dimensões de 1,0 a 1,5 cm² na solução da Etapa 5 para realizar a adsorção celular sob agitação em shaker a 30°C durante 24 h;
 - Etapa 7: Em um recipiente adicionar uma proporção de 80 a 90 g de mel para cada 250 mL de mosto;
 - Etapa 8: Para preparo do mosto adicionar e homogeneizar os seguintes ingredientes ao mel da Etapa 7: uma proporção de polpa de jaca hidrolisada de 20 a 30% v/v, extrato de farelo de arroz de 5 a 32,5 g/L (gramas por litro), 80 a 90

mL de água destilada estéril suplementada com 1 g/L de sulfato de amônio e 0,1 g/L de cloreto de magnésio;

- Etapa 9: Adicionar 10 g do suporte obtido na Etapa 6 ao mosto de mel suplementado obtido na Etapa 8;

- Etapa 10: Realizar a fermentação alcoólica do mosto inoculado com as leveduras imobilizadas em suporte de fibra de jaca da Etapa 9 na temperatura de 30°C no intervalo 5 a 7 dias;

- Etapa 11: Realizar a decantação para remoção de sólidos e clarificação do hidromel obtido na Etapa 10;

- Etapa 12: Realizar a destilação em alambique de cobre do hidromel obtido na Etapa 11, descartando as frações indesejadas;

- Etapa 13: Realizar o envelhecimento da aguardente em barril de carvalho durante 10 a 14 meses.

2. Processo de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizado pelo fato** da concentração da enzima na hidrólise da Etapa 1 ser de 0,09%.
3. Processo de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizado pelo fato** do tempo de hidrólise da Etapa 2 ser 60 minutos.
4. Processo de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizada pela** quantidade de levedura liofilizada adicionada na propagação celular na Etapa 3 ser 0,1 g.
5. Processo de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizada pela** quantidade de 1 mL levedura concentrada adicionada a 100 mL de NaCl para adsorção do suporte de fibra de jaca na Etapa 5.
6. Processo de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizada pelo** suporte de fibra de jaca em formato cúbico ser usado na dimensão de 1,5 cm² na Etapa 6;

7. Processo de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizada pela** proporção de 85 g de mel para cada 250 mL de mosto na Etapa 7.
8. Processo de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizada pela** proporção de 30% v/v de polpa de jaca hidrolisada (correspondente a 75 mL), 5 g/L de extrato de farelo de arroz (correspondente a 8 mL) e 82 mL de água destilada suplementada com 1 g/L de sulfato de amônio e 0,1 g/L de cloreto de magnésio para o mosto descrito na Etapa 8.
9. Processo de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizada pelo** processo de fermentação alcoólica descrito na Etapa 10 ocorrer preferencialmente a 30°C durante 5 dias.
10. Processo de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizada pelo** processo de remoção das partes que correspondem a cabeça e a cauda durante a destilação da aguardente, descrito na Etapa 12.
11. Processo de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizada pelo** processo envelhecimento da aguardente descrito na Etapa 13 ocorrer preferencialmente durante 12 meses.
12. Aguardente de mel conforme obtida nas Reivindicações de 1 a 11, **caracterizada pelo fato** de os materiais de partida serem mel, água suplementada, polpa de jaca hidrolisada, extrato de farelo de arroz.
13. Aguardente de mel de acordo com a Reivindicação 12, **caracterizada pelas** quantidades dos materiais de partida serem mel (85 g), água suplementada (82 mL), polpa de jaca hidrolisada (75 mL), extrato de farelo de arroz (8 mL) para produção de 250 mL da bebida.
14. Aguardente de mel de acordo com a Reivindicação 13, **caracterizada pelo fato** de o teor alcoólico estar **entre 35 a 45°GL**.

Processo de obtenção de aguardente mel utilizando polpa de jaca hidrolisada como suplemento, levedura imobilizada em fibra de jaca e produto obtido pelo mesmo

Campo da invenção

[1] O presente pedido trata da invenção de uma aguardente de mel obtida a partir de um hidromel suplementado com polpa de jaca (*Artocarpus Integrifolia* L) hidrolisada, utilizando leveduras *Saccharomyces bayanus* imobilizadas em fibra de jaca (eixo central do fruto) durante o processo fermentativo. O produto contempla a área da Biotecnologia, com a produção de uma bebida fermento-destilada com uso de imobilização celular em suporte orgânico, visando o reaproveitamento do suporte para otimização de processos industriais.

Fundamentos da invenção

[2] O produto consiste numa aguardente de mel, bebida fermento-destilada, obtida a partir do hidromel suplementado com polpa de jaca hidrolisada. Durante o processo fermentativo do hidromel utilizou-se a imobilização celular de leveduras *Saccharomyces bayanus* em um suporte natural de fibra de jaca.

[3] O suporte foi obtido a partir do eixo central da jaca, parte do fruto que normalmente é descartada, gerando resíduos para o meio ambiente. O principal objetivo da bebida é o aproveitamento sustentável do mel e da jaca, um fruto abundante em algumas regiões do Brasil e ainda com pouco uso industrial.

[4] Atualmente na literatura não existem produtos similares a este. É comum encontrar aguardentes de Mel produzidos com leveduras livres, diversos tipos de mel, e envelhecidas em diferentes tipos de madeira. Ao utilizar a polpa de jaca como suplemento no mosto e a fibra de jaca como suporte para imobilização celular no processo fermentativo, temos o uso não convencional do fruto, que é mais consumido in natura, para a produção de uma bebida de alto valor agregado. A jaca é um fruto abundante no Brasil, rico em nutrientes, mas não é comum encontrar derivados sendo processados industrialmente ou comercializados. Além disso, por ser um fruto grande e

com muitas partes não comestíveis (casca, eixo central, semente), há um grande descarte de resíduos que tem grande potencial de reaproveitamento, gerando impactos ao meio ambiente.

[5] A dissertação de Mestrado “Produção artesanal de aguardente de mel de abelhas de diferentes floradas” de Lima (2011) demonstra a produção de aguardentes de mel de abelhas de 7 diferentes floradas, de caldo de cana-de-açúcar e de mostos mistos (caldo de cana-de-açúcar e mel de abelhas de diferentes floradas), em alambique de cobre e posterior envelhecimento em barris de carvalho.

[6] Na tese intitulada “Estudo dos parâmetros fermentativos na obtenção de aguardente de mel” de Campos (2011), avaliou-se o desempenho fermentativo de 10 cepas de leveduras isoladas de frutas, de mel centrifugado e de resíduo do processamento de mel após a etapa de sedimentação (borra do mel), em mosto constituído de Mel 15 °Brix suplementado com diferentes nutrientes, sendo eles extrato de levedura comercial, farelo de arroz, mistura constituída de farelos de milho, arroz e soja na proporção 5:2:5 e nutriente comercial (D&R). Após avaliação do processo fermentativo, foi feita a seleção do mosto suplementado com extrato de levedura comercial e da melhor cepa de levedura (a levedura isolada a partir da borra de mel) que foram posteriormente avaliados numa produção de aguardente de mel em escala piloto, com envelhecimento em barril de carvalho durante 180 dias.

[7] O documento CN107858232A descreve um método para preparar uma levedura utilizada na produção de vinho de jaca, e se refere ao campo técnico de preparação de levedura de destilaria. A levedura foi cultivada em meios contendo as seguintes matérias-primas: arroz, soja, *radix puerariae*, folhas de lentilha, folhas de jaca, casca de jaca, quiabo, malte, alcaçuz e *fructus momordicae*. O método de preparação compreende as etapas de esmagar o arroz, a soja, o *radix puerariae*, as folhas de lentilha, as folhas de jaca, a casca de jaca, o quiabo e o malte, misturar a mistura esmagada com o líquido de decocção do alcaçuz e do *fructus momordicae*, adicionar água, amassar em bolas de levedura de destilaria, inocular *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida*, cultivar até que o micélio cresça completamente e secar as bolas de levedura de destilaria. A levedura pode produzir pectinase e resolver o problema de necessidade de adição de pectinase

no pré-processamento antes da fermentação do vinho de jaca, de modo que o processo de fermentação é reduzido e a taxa de produção de vinho é otimizada.

[8] O artigo intitulado "Preparation of Wine from Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* lam) Juice Using Baker yeast: Effect of Yeast and Initial Sugar Concentrations" de Kumoro *et al.* (2012), investigou o efeito da levedura e das concentrações iniciais de açúcar na fermentação do vinho de suco de jaca. Suco de jaca clarificado com concentração de açúcar de 14% p/p foi fermentado usando 0,5 a 2,0% p/v de fermento de padeiro (*Saccharomyces cerevisiae*) sob condições anaeróbicas a 30°C por 14 dias.

[9] O Documento AU2021103289A4 se refere à produção de bioálcool utilizando diferentes partes de resíduos de jaca com diferentes tratamentos, com um processo de baixo custo e eficiente. A principal parte utilizada foi a parte central do fruto, casca e partes fibrosas, estes resíduos agrícolas são fontes mais baratas e econômicas para a produção de bioálcool. O processo de produção de bioálcool a partir da jaca (considerada resíduo) é submetido à sacarificação com *Aspergillus oryzae* (NCIM No. 645) seguido de fermentação com *Saccharomyces cerevisiae* (NCIM 3314).

[10] A aguardente de mel, obtida a partir do hidromel suplementado com polpa de jaca e utilizando a imobilização de *Saccharomyces bayanus* em fibra de jaca durante o processo fermentativo é um produto com características sensoriais únicas, devido ao teor nutricional que a polpa de jaca traz ao produto final. Além disso, há uma melhoria do processo fermentativo com a suplementação do mosto e a imobilização celular em fibra de jaca, uma nova tecnologia sustentável, obtida a partir de um resíduo que causaria impactos ao meio ambiente e que está sendo reutilizado para gerar um novo produto de alto valor agregado. O uso de leveduras imobilizadas permite otimização do processo fermentativo, removendo algumas etapas do processo, como a filtração, facilita a remoção dos microrganismos e permite a reutilização celular, resultando em uma economia nos processos industriais. O aproveitamento sustentável da jaca, com uso da polpa e da fibra, para produção de uma bebida fermento-destilada incrementa o uso de produtos agrícolas e da fruticultura no ramo industrial, reduzindo também impactos ao meio ambiente com o reaproveitamento de subprodutos.

Breve descrição dos desenhos

[11] A Figura 1 representa o suporte de fibra de jaca utilizado para imobilização celular.

[12] A Figura 2 representa as etapas de processamento da aguardente de mel.

Descrição da invenção

[13] Jaca: coleta, seleção, obtenção da polpa e fibra: As frutas maduras foram colhidas e o estágio de maturação foi determinado com avaliação visual da casca, textura macia e odor frutado característico.

[14] Após colheita, foram realizadas as operações de lavagem, sanitização, corte, seleção das bagas e extração do caroço.

[15] A jaca inteira, com casca íntegra, sem contaminações e com aspecto amolecido, foi lavada em água corrente. A sanitização foi feita com imersão do fruto inteiro em água clorada na concentração de 200 ppm durante 15 minutos, seguida de enxague em água corrente para eliminação dos resíduos de cloro e demais sujidades. Todos os utensílios utilizados também foram higienizados seguindo o mesmo procedimento para evitar quaisquer contaminações ao produto final.

[16] Após sanitizados, os frutos foram abertos e separados entre polpa, semente e fibra (eixo central). As bagas de jaca selecionadas, sem sementes, foram previamente branqueadas por imersão em água a 60°C por 5 min e resfriadas a 30°C com água a temperatura ambiente, visando inativar enzimas e evitar o escurecimento da polpa durante o congelamento. As bagas foram processadas em liquidificador industrial, com homogeneização durante 3 minutos em velocidade máxima. As polpas foram embaladas em sacos de polietileno, devidamente vedados, e armazenadas em congelamento a -18°C para posterior utilização.

[17] As sementes foram descartadas e a polpa e a fibra foram armazenadas em congelador para posterior utilização. A fibra de jaca foi previamente autoclavada para eliminação de contaminantes e inativação de enzimas a 121°C, durante 10 min, e o suporte foi obtido (Figura 1) com cortes em formato cúbico nas dimensões de 1.0 a 1.5

cm². Numa modalidade preferida da invenção, o suporte utilizado no processo fermentativo tem dimensão de 1,5 cm².

[18] No processo fermentativo foi avaliado o desempenho de uma cepa de *Saccharomyces bayanus*, com utilização da linhagem comercial Red Star Premier Blanc. De acordo com o fabricante as propriedades incluem boa resistência contra baixas temperaturas, baixa produção de acetaldeído, alta tolerância a álcool (>16%v/v) e alta taxa de fermentação. Devido às suas características, o perfil do fermento é indicado para produção de vinho e hidromel.

[19] Hidrólise enzimática da polpa de jaca: O tratamento enzimático da polpa de jaca da variedade mole foi realizado utilizando a solução enzimática comercial Viscozyme L, na concentração de 0,05 a 0,09%, a 60°C, durante o tempo de 60 a 100 min. Em uma modalidade preferida da invenção a concentração enzimática foi de 0,09%. As polpas foram diluídas na proporção de uma parte de polpa e duas partes de água, homogeneizadas e aquecidas até a temperatura do ensaio (60°C) em banho termostático, após atingir a temperatura desejada a enzima foi adicionada. O tratamento enzimático foi realizado em frascos Erlenmeyer de 250 mL fechado contendo 120 mL de solução, com aquecimento em banho termostático e agitação de 150 rpm. Ao final do tratamento a enzima foi inativada através do aquecimento da solução em banho Maria a 85°C/5min e resfriada até 30°C. A seguir as amostras foram centrifugadas (2000 g) durante 10 min e a polpa clarificada foi obtida, armazenada em frascos e mantida sob congelamento a -18°C até o momento da sua utilização.

[20] O emprego da hidrólise enzimática de polpas de frutas antes do processo fermentativo traz diversas vantagens para o mesmo, como redução da viscosidade, melhora da clarificação da bebida e redução de impurezas, aumento da eficiência fermentativa com maior liberação de açúcares e melhora do perfil sensorial com maior extração de compostos aromáticos da polpa. Nas pesquisas realizadas previamente não foram citados trabalhos que utilizaram este processo.

[21] Extrato de Farelo de Arroz: O farelo de arroz foi homogeneizado com água destilada na concentração de 150 g/L, e a solução foi autoclavada a 121°C, durante 30 min. O extrato obtido foi centrifugado a uma rotação de 3500 rpm, por 10 minutos e o

sobrenadante foi armazenado em frascos esterilizados e posteriormente pasteurizado para eliminar eventuais contaminações. Este procedimento foi realizado em banho-Maria com aquecimento a 85°C por 15 min e posterior resfriamento até 30°C. Os frascos contendo o extrato de arroz (150 g/L) foram armazenados sob congelamento a -18°C até o momento da sua utilização.

[22] Preparo do inóculo, propagação e imobilização celular: A levedura *Sacharomyces bayanus* Red Star Premier Blanc liofilizada foi pesada de acordo com as instruções do fabricante (0,1 a 0,2 g), e a propagação foi realizada em frascos Erlenmeyer de 500 mL previamente esterilizados contendo 300 mL do mosto de mel e água estéril na concentração de 30° Brix, com pH 4,5. A solução foi agitada em shaker nas condições de 30°C a 150 rpm durante 24 h, a fim de obter uma concentração celular aproximada de 10^7 células/mL. Após 24 horas de agitação, a solução propagada foi centrifugada a 3000 xg durante 10 min, e o sobrenadante descartado. Todo o volume de leveduras decantado foi adicionado a um único tubo, e a concentração de células do meio (em gramas por litro) foi calculada através de uma curva-padrão de crescimento celular (MOURA, 2015). Esta solução concentrada de leveduras foi utilizada para inoculação e adsorção no suporte de fibra de jaca, na quantidade de 1 ou 2 mL. 10 gramas do suporte de fibra de jaca foram secos em estufa por 24 h a 60° C, após a secagem o suporte foi adicionado a um frasco Erlenmeyer de 250mL contendo 100 mL de cloreto de sódio e 1 mL do inóculo concentrado de leveduras. A solução de leveduras e suporte foi agitada em agitador rotatório nas condições de 30°C e 150 rpm por 24 h para realizar a adsorção. Após esse período o suporte foi inoculado no mosto de mel.

[23] Preparo do mosto de mel e fermentação do hidromel: utilizou-se nos experimentos 250 mL de um mosto de mel e água, suplementado com 20 a 30% v/v de polpa de jaca hidrolisada e 5 a 32,5 g/L extrato de farelo de arroz, após a suplementação o teor de sólidos solúveis do mosto irá variar com valores próximos a 30°Brix. A quantidade de mel utilizada varia entre 80 a 90 gramas para 250 mL de mosto. Numa modalidade preferida da invenção utilizou-se 85g de mel, 30% v/v de polpa de jaca hidrolisada e 5 g/L de extrato de farelo de arroz no preparo do mosto.

[24] A diluição do mel é feita com água destilada suplementada com 1 g/L de sulfato de amônio e 0,1 g/L de cloreto de magnésio e esterilizada em autoclave. Inicialmente é

feita uma medida do teor de sólidos solúveis do mel (que tem valores entre 80-90°Brix) e da quantidade de água necessária para diluir 1 g de mel até 30°Brix. Quando estabelecidas as quantidades, calculamos então o teor de mel e água necessários para fazer 250 mL de um mosto mel:água a 30°Brix, através da equação da diluição de soluções (Equação 1).

$$C_1V_1 = C_2V_2 \text{ (Equação 1)}$$

onde C_1 é a concentração de sólidos solúveis conhecida do mel (em °Brix), V_1 é o volume a ser descoberto, C_2 é a concentração de sólidos solúveis inicial do mosto (30°Brix) e V_2 é o volume total do mosto (250 mL).

A partir dessa equação tem-se um volume de mel a ser utilizado ($C_1 = V_{\text{mel}}$), e por um cálculo de diferença através da Equação 2 tem-se o volume de água necessário para diluir o mel até a concentração de sólidos solúveis de 30°Brix.

$$V_{\text{mosto}} = V_{\text{Mel}} + V_{\text{água}} \text{ (Equação 2)}$$

sendo o volume do mosto (V_{mosto}) = 250 mL e o volume de mel ($V_{\text{mel}} = C_1$),

[25] Estabelecida a quantidade água que será utilizada no mosto ($V_{\text{água}}$), para a suplementação, substitui-se parte deste volume de água pelos suplementos: polpa de jaca hidrolisada (30% v/v, ou seja, 30% do volume total do mosto de 250 mL, totalizando 75 mL de polpa) e 5 g/L do extrato de farelo de arroz (8 mL de um extrato com teor inicial de 150 g/L). O cálculo do teor de extrato de arroz a ser utilizado é estabelecido através da Equação 1 da diluição de soluções:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Nesta situação C_1 corresponde à concentração conhecida do extrato de farelo de arroz (150 g/L), V_1 é o volume de extrato a ser descoberto, C_2 é a concentração de extrato de farelo de arroz desejada no mosto (5 g/L) e V_2 é o volume total do mosto (250 mL).

[26] Os ensaios de fermentação de hidromel suplementado com jaca foram realizados em frascos Erlenmeyer de 500 mL contendo 250 mL de meio, pH 4,5, inoculado com células (*Saccharomyces bayanus*) imobilizadas em 10 g de suporte de fibra de jaca, em formato cúbico de tamanho 1,0 a 1,5 cm² e incubado em incubadora B.O.D a 30 °C

durante 5 a 7 dias. Numa modalidade preferida da invenção o processo fermentativo ocorreu durante 5 dias. Após o processo fermentativo o hidromel é coletado, decantado, clarificado e segue para a destilação em alambique de cobre.

[27] Destilação do Hidromel e produção da aguardente: o hidromel suplementado com polpa de jaca foi destilado em alambique de cobre com sistema elétrico. No processo coletaram-se as frações cabeça, coração e cauda, obtendo a fração desejada e eliminando os componentes indesejáveis da bebida, que consistem em álcoois de cadeias maiores e menores que são formados, mas não devem ser consumidos. A aguardente apresentou teor alcóolico de 40° GL, na fração coração, que foi armazenada em barril de carvalho para envelhecimento no período de 10 a 14 meses. Numa modalidade preferida da invenção a aguardente foi envelhecida num período de 12 meses.

[28] A presente invenção tem como objetivo revelar um Processo de obtenção de aguardente mel utilizando polpa de jaca hidrolisada como suplemento, levedura imobilizada em fibra de jaca e produto obtido pelo mesmo, compreendendo as seguintes etapas:

- Etapa 1: Adicionar a enzima numa concentração de 0,05% a 0,09% na polpa de jaca diluída em água (1:2) para hidrólise enzimática;
- Etapa 2: Para realizar a hidrólise enzimática, aquecer a solução da Etapa 1 a 60°C durante um período de 60 a 100 min;
- Etapa 3: Adicionar levedura liofilizada entre 0,1 e 0,2 g em 300 mL de uma solução de mel e água 30° Brix para a propagação celular durante 24 h em shaker;
- Etapa 4: Centrifugar a solução da Etapa 3, descartar o sobrenadante, adicionar 0,5 mL de água destilada aos tubos e obter uma solução concentrada de leveduras em um único tubo;
- Etapa 5: Adicionar uma faixa de 1 a 2 mL de solução concentrada de leveduras da Etapa 4 em 100 mL de NaCl;

- Etapa 6: Adicionar 10 g do suporte de fibra de jaca em formato cúbico nas dimensões de 1,0 a 1,5 cm², previamente seco em estufa a 60°C, na solução da Etapa 5 para realizar a adsorção celular sob agitação em shaker a 30°C durante 24 h;
- Etapa 7: Em um recipiente adicionar uma proporção de 80 a 90 g de mel para cada 250 mL de mosto;
- Etapa 8: Para preparo do mosto adicionar e homogeneizar os seguintes ingredientes ao mel da Etapa 7: uma proporção de polpa de jaca hidrolisada de 20 a 30% v/v, extrato de farelo de arroz de 5 a 32,5 g/L (gramas por litro), 80 a 90 mL de água destilada estéril suplementada com 1 g/L de sulfato de amônio e 0,1 g/L de cloreto de magnésio.
- Etapa 9: Adicionar 10 g do suporte obtido na Etapa 6 ao mosto de mel suplementado obtido na Etapa 8;
- Etapa 10: Realizar a fermentação alcoólica do mosto inoculado com as leveduras imobilizadas em suporte de fibra de jaca da Etapa 9 na temperatura de 30°C no intervalo 5 a 7 dias;
- Etapa 11: Realizar a decantação para remoção de sólidos e clarificação do hidromel obtido na Etapa 10;
- Etapa 12: Realizar a destilação em alambique de cobre do hidromel obtido na Etapa 11, descartando as frações indesejadas;
- Etapa 13: Realizar o envelhecimento da aguardente em barril de carvalho durante 10 a 14 meses.

A presente invenção também se refere à aguardente de mel, obtido pela destilação em alambique de cobre do hidromel suplementado com polpa de jaca hidrolisada, extrato de farelo de arroz e água suplementada, utilizando imobilização de leveduras em fibra de jaca durante o processo fermentativo. A aguardente resultante deve ter um teor alcoólico mínimo de 35° GL e características organolépticas derivadas do mel e da jaca, que trazem um aspecto sensorial único ao produto.

Exemplos de concretização da invenção

- [29]** Concretizamos a invenção que acabamos de descrever acima de maneira alternativa, executando as etapas com determinados parâmetros estabelecidos:
- [30]** Na Etapa 1 do processo foi realizada com concentração da enzima na hidrólise sendo 0,09% e o tempo de hidrólise da Etapa 2 sendo 60 minutos;
- [31]** Na Etapa 3, para a propagação celular e ativação da levedura utilizou-se uma quantidade de 0,1 g do microrganismo em 300 mL de mosto de mel:água 30°Brix;
- [32]** Na adsorção celular, foi produzida uma solução com 1 mL de leveduras concentradas em 100 mL NaCl, descrita na Etapa 5, e foi adicionado 10 g de suporte de fibra de jaca com dimensão 1,5 cm², descrito na Etapa 6. Este sistema de suporte + leveduras foi mantido sob agitação em shaker a 30°C durante 24h;
- [33]** Para produzir 250 mL de mosto, foi utilizado 85 g do mel descrito na Etapa 7, e suplementado de acordo com a Etapa 8 com 30% v/v de polpa de jaca hidrolisada (75 mL), obtida na Etapa 2, extrato de farelo de arroz na concentração de 5 g/L (8 mL), e o volume foi complementado com 82 mL de água destilada suplementada, totalizando a quantidade definida no experimento de 250 mL de mosto;
- [34]** 10 g do suporte de fibra de jaca de 1,5 cm², inoculado com leveduras, obtido na Etapa 6 foi adicionado ao mosto de mel suplementado obtido na Etapa 8;
- [35]** A fermentação alcoólica do mosto inoculado com as leveduras imobilizadas obtido na Etapa 9 na temperatura de 30°C durante 5 dias;
- [36]** O hidromel produzido foi decantado, clarificado e submetido à destilação.
- [37]** A aguardente obtida após a destilação foi envelhecida em barril de carvalho durante 12 meses.
- [38]** Aguardente de mel obtida é caracterizada pelos materiais de partida serem mel (85 g), água suplementada (82 mL), polpa de jaca hidrolisada (75 mL), extrato de farelo de arroz (8 mL), para produção de 250 mL da bebida.

RESUMO

Processo de obtenção de aguardente mel utilizando polpa de jaca hidrolisada como suplemento, levedura imobilizada em fibra de jaca e produto obtido pelo mesmo

A invenção de uma aguardente de mel obtida a partir de um hidromel suplementado com polpa de jaca (*Artocarpus Integrifolia* L) hidrolisada e extrato de farelo de arroz, utilizando leveduras imobilizadas em fibra de jaca (eixo central do fruto) durante o processo fermentativo. O produto contempla a área da Biotecnologia, com a produção de uma bebida fermento-destilada com uso de imobilização celular em suporte orgânico, visando o aproveitamento sustentável da jaca, um fruto ainda pouco utilizado em processos industriais.

.