



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE  
SANTANA**



**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM  
BIOTECNOLOGIA**

**MASHELY PICKMAN GUTIERREZ**

**EFEITO DAS CONCENTRAÇÕES DE MOSTO, DE POLPA DE UMBU  
(*Spondias tuberosa* Arruda câmara) E DE EXTRATO DE FEIJÃO CAUPI  
(*Vigna unguiculata* L. Walp) NA PRODUÇÃO DE HIDROMEL POR  
*Saccharomyces bayanus* PREMIER BLANC**

Feira de Santana, BA  
2019

**MASHEL Y PICKMAN GUTIERREZ**

**EFEITO DAS CONCENTRAÇÕES DE MOSTO, DE POLPA DE UMBU  
(*Spondias tuberosa* Arruda câmara) E DE EXTRATO DE FEIJÃO CAUPI  
(*Vigna unguiculata* L. Walp) NA PRODUÇÃO DE HIDROMEL POR  
*Saccharomyces bayanus* PREMIER BLANC**

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

Orientador: Prof. Dr. Ernesto Acosta Martinez

Feira de Santana, BA

2019

### Ficha Catalográfica – Biblioteca Central Julieta Carteado

Gutierrez, Mashely Pickman

G995e Efeito das concentrações de mosto, de polpa de umbu (*Spondias tuberosa* Arruda câmara) e de extrato de feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) na produção de hidromel por *Saccharomyces bayanus* Premier blanc./Mashely Pickman Gutierrez. – 2019.

98f.: il.

Orientador: Ernesto Acosta Martinez

Dissertação (mestrado) –Universidade Estadual de Feira de Santana. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2019.

1.Umbu. 2.Extrato de feijão caupi. 3.Hidromel. 4.*Saccharomyces bayanus*. I.Martinez, Ernesto Acosta, orient. II.Universidade Estadual de Feira de Santana. III.Título.

CDU: 663.5

Maria de Fátima de Jesus Moreira – Bibliotecária – CRB5/1120

## BANCA EXAMINADORA



**Dr.<sup>a</sup> Rita de Cássia Lacerda Brambilla Rodrigues**  
(Universidade de São Paulo)



**Dr. Giovani Brandão Mafra de Carvalho**  
(Universidade Estadual de Feira de Santana)



**Dr. Ernesto Acosta Martínez**  
(Universidade Estadual de Feira de Santana)  
Orientador e Presidente da Banca

Dedicado à minha amada mãe, Lucía Gutiérrez Rojas, ao meu pai Juan Luis Pickman Herrera e aos meus queridos irmãos, por todo amor, sacrifício, ajuda, carinho e compreensão, minha família, principais suportes de ter chegado até aqui e promotores dos meus sonhos.

## AGRADECIMENTOS

A Deus por todos os dias abençoar minha vida por me permitir ter e desfrutar da minha família e me acompanhar a cada longa e exaustiva decisão.

Ao professor Dr. Ernesto Martinez, pela orientação, ajuda, disponibilidade, paciência, confiança, correções, valiosas sugestões contribuindo para o meu crescimento intelectual, pelos seus vastos conhecimentos transmitidos e apoio na condução do projeto e elaboração da Dissertação.

A Geiza e Kayque pelos ensinamentos e contribuições, por todos os momentos de descontração no laboratório, discussões do artigo, as alegrias, a ansiedade, ao apoio, as boas risadas, ao companheirismo com a qual aprendi coisas além do conhecimento acadêmico como integridade e dedicação, Jaqueline e Adriana pelo apoio e agradável convivência durante o decorrer do mestrado, uma amizade que vai ser levada para a minha vida.

Ao professor Pós Dr. Giovani Brandão coordenador do LAFI-QUI.

A professora Dr<sup>a</sup> Sílvia Maria Almeida de Souza pela gentileza e disposição em me ajudar a obter o mel necessário para o desenvolvimento da pesquisa.

Aos técnicos e funcionários pela simpatia com que sempre me receberam ao Sr. Luis pela ajuda técnica prestada ao longo do trabalho experimental.

Aos professores membros da banca examinadora, pela disponibilidade e contribuição dedicadas a esta dissertação.

Ao PPGBiotec, AERI, UEFS/FIOCRUZ, que foram responsáveis por sua grande contribuição para alcançar este objetivo que hoje foi refletido na culminação do projeto e a CAPES pelo apoio financeiro.

Enfim, a todos os que direta ou indiretamente colaboraram e se fizeram presentes na minha vida no Brasil para a realização desta Dissertação de Mestrado, muito obrigada.

## RESUMO

Através da fermentação do mel, diversas bebidas podem-se obter, dentre eles o hidromel, uma bebida alcoólica a partir do mel, água e leveduras, cujo teor alcoólico varia entre 4 e 14% (v/v) que pode ser suplementado com ácido cítrico, ervas, especiarias, polpas ou suco de frutas. A produção de hidromel ainda ocorre de maneira empírica e artesanal, demonstrando a necessidade de pesquisas que visem o aprimoramento do processo de fabricação, considerando desde a seleção do agente da fermentação, formulação do mosto, estudo dos parâmetros fermentativos, bem como a definição de padrões de identidade e qualidade do produto final. O mel produzido na região da Bahia foi avaliado como o mais puro do Brasil e até do mundo por ser procedente de plantas nativas livres de agrotóxico, ocupando o oitavo lugar no Brasil e o terceiro lugar da região Nordeste. Devido à baixa concentração de nutrientes, baixo pH e baixa concentração de minerais no mel, alto teor de açúcares e outras condições de crescimento desfavorável no processo fermentativo levando assim a demanda de muito tempo e problemas na qualidade da bebida, produção de aromas e sabores indesejáveis. O umbu é um fruto rico em carboidratos, ácido ascórbico, teores significativos das vitaminas A, B1 e de sais minerais apresentando grande potencial para aproveitamento industrial. O feijão caupi faz parte do grupo das leguminosas amiláceas, é considerada como uma das mais importantes sementes comestíveis entre as leguminosas, sendo uma fonte de proteínas e aminoácidos essenciais, fibras alimentares, assim como vitaminas e minerais. O presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito das concentrações de mosto, de polpa de umbu e de extrato de feijão caupi na produção de hidromel por *Saccharomyces bayanus* Premier Blanc. O mel apresentou  $24,4 \pm 1,5$  mEq/Kg de acidez total;  $76,36 \pm 0,01\%$  de açúcares redutores;  $81,3 \pm 0,12\%$  de açúcares não redutores;  $80,27 \pm 0,23$  °Brix;  $0,25 \pm 0,02\%$  de cinzas; pH 3,5 e 18,73% de umidade. A polpa de umbu teve  $1,5 \pm 0,14$  % de acidez total;  $7,8 \pm 0,45$  °Brix;  $0,44 \pm 0,02\%$  de cinzas;  $0,61 \pm 0,09\%$  de proteína total; pH 2,67 e  $94 \pm 1,93\%$  de umidade. Através da avaliação da capacidade da produção de sulfeto de hidrogênio de três cepas de *Saccharomyces cerevisiae* (Pasteur Red, Cotê des Blanes, Saffbrew Abbaye) e uma de *Saccharomyces bayanus* (Premier Blanc) esta última foi selecionada por mostrar menor produção deste composto indesejável. Os ensaios de fermentação foram conduzidos segundo planejamento fatorial  $2^3$  com três repetições do ponto central. O processo fermentativo foi realizado em frascos Erlenmeyer de 500 mL contendo 250 ml de meio composto por mel e água (15, 25, 35 °Brix) nas condições de pH 4,5, 30 °C durante 240 h para avaliar o efeito da concentração de polpa de umbu (10, 20, e 30%) e extrato de feijão caupi (10, 20, e 30 g/L). Maior crescimento celular ( $11,9 \times 10^7$  cél/mL) de *S. bayanus* Premier Blanc, maiores valores de produção de etanol (15,0% v/v), produtividade volumétrica de etanol ( $0,8 \pm 0,008$  g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) e eficiência de fermentação (89,7%) foram verificados com mosto de 35 °Brix, 30% de polpa de umbu e 20 g/L de extrato de feijão após 144 h de fermentação. As condições ótimas de fermentação foram avaliadas em fermentador de 5 L de capacidade.

**PALAVRAS-CHAVE:** Umbu, Extrato de feijão caupi, *Saccharomyces bayanus*, Hidromel.

## ABSTRACT

Through the fermentation of honey, various beverages can be obtained, including mead, an alcoholic beverage from honey, water and yeast, whose alcohol content varying between 4 and 14% (v/v) which may be supplemented with citric acid, herbs, spices, fruit pulp or fruit juice. The mead production still occurs in an empirical and handcrafted, demonstrating the need for research aimed at the improvement of the manufacturing process, considering from the selection of the fermentation agent, wort formulation study of fermentation parameters as well as setting standards identity and quality of the final product. The honey produced in Bahia was evaluated as the most pure and even Brazil world free to be coming from plants native to pesticide, occupying the eighth place in Brazil and the third in the Northeast. Due to low nutrient concentration, low pH and low concentration of minerals in honey, high content of sugars and other conditions unfavorable growth in the fermentation process thus leading to demand a lot of time and trouble in the beverage quality, production of flavors and off-flavors. The umbu fruit is rich in carbohydrates, ascorbic acid, has a significant levels of vitamins A, B1 and minerals having high potential for industrial use. The cowpea bean is part of the group of starchy vegetables, is considered one of the most important edible seeds of legumes as a source of protein and essential amino acids, dietary fiber as well as vitamins and minerals. This study aims to evaluate the effect of wort concentrations, umbu pulp and bean extract cowpea in mead production by *Saccharomyces bayanus* Premier Blanc. The honey had  $24.4 \pm 0.33$  mEq/kg total of acid;  $76.36 \pm 0.01\%$  reducing sugars;  $81.3 \pm 0.12\%$  of non-reducing sugars;  $80.27 \pm 0.23$  °Brix;  $0.25 \pm 0.02\%$  ash; pH 3.5 and 18.73% moisture. The umbu pulp had  $1.5 \pm 0.14\%$  of total acid;  $7.8 \pm 0.45$  °Brix;  $0.44 \pm 0.02\%$  ash;  $0.61 \pm 0.09\%$  total protein; pH 2.67 and  $94 \pm 1.93\%$  humidity. By evaluating the capacity of hydrogen sulfide production of three strains of *Saccharomyces cerevisiae* (Red Pasteur, Cote des Blanes Safbrew Abbey) and *Saccharomyces bayanus* (Premier Blanc) the latter has been selected to show lower production of the undesirable compound. The fermentation tests were conducted according  $2^3$  factorial design with three replications of the center point. The fermentation process was carried out in Erlenmeyer flasks of 500 ml containing 250 mL of medium composed of water and honey (15, 25, 35 °Brix) at the pH of 4.5, 30 ° C for 240 hours to evaluate the effect of concentration umbu of pulp (10, 20, and 30%) and extract of cowpea (10, 20, and 30 g/L). The highest values of cell growth ( $11.9 \times 10^7$  cells / mL) of *S. bayanus* Premier Blanc, ethanol production (15.0% v/v), ethanol yield volumetric ( $0.8 \pm 0.008$  gL<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) and fermentation efficiency (89.7%) were verified with 35 °Brix wort, 30% of umbu pulp and 20 gL<sup>-1</sup> of bean extract after 144 h of fermentation. The optimum fermentation conditions were evaluated in 5 L fermenter capacity.

**KEYWORDS:** Umbu, Cowpea extract, *Saccharomyces bayanus*, Mead.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABEMEL: Associação brasileira de exportadores de mel;

ANOVA: *Analysis of variance*;

ASBC: *American society of brewing chemists*;

BOD: *Biochemical oxygen demand*;

CEF: Concentração de extrato de feijão caupi;

CONTECC: Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia;

COOAPIT: Cooperativa de apicultores de Tucano;

CPU: Concentração de polpa de umbu;

EMBRAPA: Empresa brasileira de pesquisa agropecuária;

FAO - *Food and agriculture organization*;

FIOCRUZ: Fundação Oswaldo Cruz;

HMF: Hidroximetilfurfural;

IBGE: Instituto brasileiro de geografia e estatística;

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento;

SAB: Semiárido Brasileiro;

SEBRAE: Serviço brasileiro de apoio às micro e pequenas empresas;

TSST: Teor de sólidos solúveis totais;

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplo da variedade de cores do mel de <i>Apis mellifera</i> .....	27
Figura 2. Conversão da Glicose em etanol pela ação das leveduras.....	38
Figura 3. Conversão estequiométrica de glicose em etanol e dióxido de carbono (Equação de Gay-Lussac).....	38
Figura 4. Umbu ( <i>Spondias tuberosa</i> Arruda Câmara).....	41
Figura 5. Porcentual de umbu produzido por estado do Semiárido Brasileiro (SAB), em 2013.....	44
Figura 6. Produção de umbu no Brasil entre os anos 2012-2017.....	44
Figura 7. Leveduras comerciais utilizadas no teste de produção de sulfeto de hidrogênio, Cotê des Blancs (A), e Safbrew Abbaye (B) Premie Blanc (C).....	52
Figura 8. Mostos de 35 e 15°Brix contendo concentrações de polpa de umbu (10 e 30) % e extrato de feijão caupi nas concentrações de (10 e 30) g/L.....	53
Figura 9. Colônias de cepas de leveduras comerciais cultivadas em meio sólido para avaliação da produção de sulfeto de hidrogênio. Cotê des Blancs (A), Safbrew Abbaye (B) e Premier Blanc (C).....	62
Figura 10. Características das colônias superprodutoras (A), médio produtoras (B), pouco produtoras (C) e não produtoras (D) de sulfeto de hidrogênio.....	63
Figura 11. Perfil da concentração celular (células/mL) no mosto de mel suplementado com polpa comercial de umbu e extrato de feijão caupi fermentado pela levedura <i>Saccharomyces bayanus</i> Premier Blanc (A) mosto inicial 35 °Brix; (B) mosto inicial 15 °Brix; (C) mosto inicial 25 °Brix e (D) mosto inicial (25 °Brix (■ - 50% PU: 61,3 g/L EF); 25 °Brix (● - 50% PU: 5,3 g/L EF); 25 °Brix (▲ - 92% PU: 33,3 g/L EF); 25 °Brix (□ - 8% PU: 33,3 g/L EF); 41,8 °Brix (○ - 50% PU: 33,3 g/L EF) e 8,2 °Brix (△ - 50% PU:33,3 g/L EF)).....	64
Figura 12. Perfil do teor de sólidos solúveis totais (°Brix) e produção de etanol (% v/v) durante o processo fermentativo de mosto de mel suplementado com polpa comercial de umbu e extrato de feijão caupi fermentado pela levedura Premier Blanc. (A) mosto inicial 35 °Brix; (B) mosto inicial 15 °Brix; (C) mosto inicial 25 °Brix e (D) mosto inicial (25 °Brix (■-50%PU: 61,3 g/L EF); 25 °Brix (● - 50% PU: 5,3 g/L EF); 25 °Brix (▲ - 92% PU: 33,3 g/L EF); 25 °Brix (▼ - 8% PU: 33,3 g/L EF); 41,8 °Brix (◆ - 50% PU: 33,3 g/L EF) e 8,2 °Brix (* - 50% PU:33,3 g/LEF)).....	67

Figura 13. Perfis das concentrações de glicose, frutose e sacarose ( $\text{g.L}^{-1}$ ) durante a fermentação de mostos de mel contendo teor de sólidos solúveis inicial de 35°Brix suplementados com 0, 10 e 30 % de polpa comercial de umbu e 0, 10 e 30 $\text{g.L}^{-1}$ de extrato de feijão caupi.....	72
Figura 14. Perfis das concentrações de glicerol durante a fermentação de mosto de mel para 35°Brix suplementado nas respectivas concentrações de polpa de polpa de umbu (%) e de extrato de feijão caupi ( $\text{g/L}$ ) e (0 $\text{g/L}$ ) sem suplementação.....	73
Figura 15. Perfis das velocidades específicas de crescimento celular durante a fermentação de mosto de mel para 35°Brix suplementado nas respectivas concentrações de polpa de polpa de umbu (%), extrato de feijão caupi ( $\text{g/L}$ ) e (0 $\text{g/L}$ ) sem suplementação.....	74
Figura 16. Perfis das velocidades específicas de consumo de substrato durante a fermentação de mosto de mel de 35°Brix suplementado nas respectivas concentrações de polpa de polpa de umbu (%), extrato de feijão caupi ( $\text{g/L}$ ) e (0 $\text{g/L}$ ) sem suplementação.....	75
Figura 17. Perfis das velocidades específicas de formação de etanol durante a fermentação de mosto de mel de 35°Brix suplementado nas respectivas concentrações de polpa de polpa de umbu (%) e ( $\text{g.L}^{-1}$ ) de extrato de feijão caupi e sem suplementação.....	76
Figura 18. Perfis das velocidades específicas de crescimento celular, durante a fermentação de mosto de água e mel para 15°Brix suplementado nas respectivas concentrações de polpa de polpa de umbu (%) e ( $\text{g.L}^{-1}$ ) de extrato de feijão caupi e (0 $\text{g/L}$ ) sem suplementação.....	76
Figura 19. Perfis das velocidades específicas de consumo de substrato, durante a fermentação de mosto de água e mel para 15°Brix suplementado nas respectivas concentrações de polpa de polpa de umbu (%), extrato de feijão caupi ( $\text{g/L}$ ) e (0 $\text{g/L}$ ) sem suplementação.....	77
Figura 20. Perfis das velocidades específicas de formação de etanol, durante a fermentação de mosto de água e mel para 15°Brix suplementado nas respectivas concentrações de polpa de polpa de umbu (%), extrato de feijão caupi ( $\text{g/L}$ ) e (0 $\text{g/L}$ ) sem suplementação.....	78
Figura 21. Superfície de resposta do fator de conversão de substrato em produto ( $Y_{p/s}$ ) em função da concentração de e polpa de umbu (A) e Teor de sólidos solúveis totais e extrato de feijão caupi (B).....	82
Figura 22. Superfície de resposta produtividade volumétrica ( $Q_p$ ) em função da concentração de e polpa de umbu (A) e Teor de sólidos solúveis totais e extrato de feijão caupi (B).....	85

Figura 23. Perfil da concentração celular (células/mL) no mosto de mel suplementado com polpa comercial de umbu 30%: 20g/L de extrato de feijão caupi com mosto inicial 35 °Brix em escala laboratorial ampliada.....	87
Figura 24. Perfil do teor de sólidos solúveis totais (°Brix) e produção de etanol (% v/v) em escala laboratorial ampliada.....	88

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição físico-química do mel.. .....	21
Tabela 2. Escala de Pfund para correlação entre a cor do mel e suas respectivas absorbâncias a 635 nm.....	27
Tabela 3. Nutrientes do mel em relação aos requerimentos humanos.....	29
Tabela 4. Padrão de identidade e qualidade do mel.. .....	30
Tabela 5. Evolução da produção mundial de mel entre os anos 2007 e 2013. ....	31
Tabela 6. Padrão de identidade e qualidade do hidromel. ....	32
Tabela 7. Denominações dos diferentes tipos de hidroméis e suas matérias-primas.. .....	33
Tabela 8. Suplementos nutricionais usados na produção de hidromel.. .....	35
Tabela 9. Composição de umbu cru e umbu polpa congelada por 100 gramas de parte comestível: Centesimal, mineral, vitaminas e colesterol.....	42
Tabela 10. Padrão de qualidade para polpa de umbu.....	45
Tabela 11. Composição centesimal (g. 100g <sup>-1</sup> ) e valor energético (kcal. 100g <sup>-1</sup> ) de feijão-caupi ( <i>Vigna unguiculata</i> L. Walp) em base seca.....	47
Tabela 12. Composição centesimal de importantes grãos de leguminosas.....	48
Tabela 13. Matriz de planejamento fatorial 2 <sup>3</sup> com três repetições no ponto central.....	54
Tabela 14. Valores reais dos níveis codificados para o teor de sólidos solúveis (TSST), a concentração de polpa de umbu (CPU) e a concentração de extrato de feijão (CEF) utilizados no planejamento fatorial. ....	54
Tabela 15. Características físico-químicas do mel floral e valores reportados na literatura para outros méis.....	58

Tabela 16. Características físico-químicas da polpa comercial de umbu e valores reportados na literatura.....	60
Tabela 17. Comparação dos parâmetros físico-químicos do extrato de feijão-caupi, produzido e caracterizado no presente trabalho, com os reportados na literatura. ....	61
Tabela 18. Matriz dos valores reais das variáveis experimentais independentes e dependentes, para os ensaios 1 a 11 e Parâmetros fermentativos obtidos em diferentes concentrações de TSST, CPU e CEF segundo o planejamento fatorial 2 <sup>3</sup> com triplicata do ponto central, após 144 h de fermentação.....	80
Tabela 19. Coeficientes de regressão, erros-padrão, teste t de “Student” e nível de significância para o modelo representativo do fator de conversão de substrato em produto (Yp/s) da conversão de açúcares em etanol por <i>S. bayanus</i> Premier Blanc, segundo o planejamento com face centrada.....	81
Tabela 20. ANOVA, por erro total e intervalo de confiança de 95%, para os fatores de conversão de substrato em produto nos mostos de mel água para 35°Brix, após 144 h de fermentação.....	82
Tabela 21. Coeficientes de regressão, erros-padrão, teste t de “Student” e nível de significância para o modelo representativo da produtividade volumétrica (Qp) da conversão de açúcares em etanol por <i>S. bayanus</i> Premier Blanc, segundo o planejamento com face centrada.....	83
Tabela 22. ANOVA, por erro total e intervalo de confiança de 95%, para as produtividades volumétricas de etanol nos mostos de mel após 144 h de fermentação.....	84
Tabela 23. Comparação dos dados da escala piloto e dos ensaios de bancada.....	86

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. OBJETIVOS.....	18
2.1. OBJETIVO GERAL.....	18
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
3.1. MEL.....	19
3.1.1. Definição e origem.....	19
3.1.2. Classificação.....	19
3.1.3. Composição físico-química.....	20
3.1.3.1. Carboidratos.....	21
3.1.3.2. Umidade.....	22
3.1.3.3. Vitaminas e Minerais.....	23
3.1.3.4. Proteínas.....	23
3.1.3.5. Enzimas.....	24
3.1.3.6. Ácidos Orgânicos.....	25
3.1.3.7. Hidroximetilfurfural.....	25
3.1.3.8. Compostos voláteis.....	26
3.1.3.9. Compostos fenólicos.....	26
3.1.3.10. Cor.....	26
3.1.3.11. Propriedades terapêuticas.....	28
3.1.4. Padrões de qualidade do mel.....	30
3.1.4.1. Produção de mel no Brasil.....	30
3.2. HIDROMEL.....	32
3.2.1. Definição.....	32
3.2.2. Aspectos tecnológicos da produção de hidromel.....	34
3.2.2.1. Nutrientes e suplementação do mosto de mel.....	35
3.2.3. Importância Econômica.....	36
3.2.4. Aspectos da Fermentação.....	37
3.3. UMBU.....	41
3.3.1. Definição.....	41
3.3.2. Aspectos Morfológicos.....	41

3.3.3.	Composição.....	42
3.3.4.	Propriedades.....	42
3.3.5.	Produção de umbu no Brasil.....	43
3.3.6.	Polpa comercial de umbu.....	45
3.4.	FEIJÃO CAUPI .....	46
3.4.1.	Definição.....	46
3.4.2.	Composição Nutricional.....	46
3.4.3.	Produção no Brasil.....	48
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	49
4.1.	MATÉRIAS-PRIMAS.....	49
4.1.1.	Obtenção.....	49
4.1.2.	Caracterização físico-química.....	49
4.2.	SELEÇÃO E AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DAS LEVEDURAS.....	51
4.3.1.	Avaliação da produção de sulfeto de hidrogênio (H <sub>2</sub> S).....	51
4.3.	PREPARO E TRATAMENTO DO MOSTO DE MEL PARA A PRODUÇÃO DE HIDROMEL.....	52
4.3.1.	Preparo do inóculo.....	52
4.3.2.	Preparo do extrato de feijão caupi.....	52
4.3.3.	Preparo e Tratamento do mosto de mel.....	53
4.3.4.	Acompanhamento das fermentações.....	54
4.3.5.	Análises dos resultados do planejamento fatorial.....	55
4.3.6.	Determinação dos Parâmetros Fermentativos.....	55
4.3.6.1.	Fator de conversão de substrato em produto.....	55
4.3.6.2.	Produtividade Volumétrica em etanol.....	56
4.3.6.3.	Eficiência da Fermentação.....	56
4.3.7.	Cinética da fermentação.....	56
4.3.8.	Escala laboratorial ampliada.....	57
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
5.1.	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS MATÉRIAS-PRIMAS.....	58
5.2.	AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE SULFETO DE HIDROGÊNIO.....	62
5.3.	PROCESSO FERMENTATIVO.....	63
5.3.1.	Perfis das concentrações celulares, concentrações de açúcares, concentrações de etanol.....	63
5.3.2.	Cinética da fermentação .....	74

5.3.3. Análises estatística dos resultados.....	79
5.4. ESCALA LABORATORIAL AMPLIADA.....	86
6. CONCLUSÃO.....	89
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	90

## 1. INTRODUÇÃO

A apicultura é uma das atividades capazes de causar impactos positivos, tanto sociais quanto econômicos, além de contribuir para a manutenção e preservação dos ecossistemas existentes. A cadeia produtiva da apicultura propicia a geração de inúmeros postos de trabalho, empregos e fluxo de renda, principalmente no ambiente da agricultura familiar, sendo, dessa forma, determinante na melhoria da qualidade de vida e fixação do homem no meio rural. O Brasil possui grande potencial para esta atividade, devido às características endofoclimáticas, elevada extensão territorial e uma flora muito diversificada que lhe conferem um potencial fabuloso para a atividade apícola, ainda pouco explorada (EMBRAPA, 2012). A região Nordeste do Brasil possui a flora mais rica do mundo e é considerada grande potência para a produção de mel. O mel produzido na região foi avaliado como o mais puro do país e até do mundo (BAYMA, 2008), já que é oriundo de plantas nativas livres de agrotóxico e produzido por abelhas africanizadas, mais resistentes a doenças, e que dispensa o uso de antibióticos na alimentação. Além disso, é o mel mais nutritivo, pois, por ser de vegetação nativa e poli floral, ao contrário do Sul e Sudeste do país que produzem mel de plantações programadas, geralmente de uma só cultura (CARNEIRO, 2006).

Muitos trabalhos científicos sobre os benefícios do mel para a saúde foram já publicados, no entanto, existem poucos estudos sobre os produtos derivados do mel, como o hidromel, bebida alcoólica obtida a partir da fermentação de uma mistura de água e mel por leveduras, cujo teor alcoólico varia entre 4 e 14% (v/v) e que pode ser suplementado com ácido cítrico, ervas, especiarias, polpas ou suco de frutas. A produção de hidromel ainda ocorre de maneira empírica e artesanal, demonstrando a necessidade de pesquisas que visem o aprimoramento do processo de fabricação, considerando desde a seleção do agente da fermentação, formulação do mosto, estudo dos parâmetros fermentativos, bem como a definição de padrões de identidade e qualidade do produto final.

Considerando a importância do mercado de bebidas alcoólicas no Brasil, a influência nas condições de produção sobre a qualidade e a aceitação do produto, as ações de pesquisa e desenvolvimento que vêm sendo executadas nessa área, irão favorecer o aumento da competitividade do setor tanto para o mercado interno, como para o externo, contribuindo para elevar o País a uma posição de destaque no mercado mundial de mel (PEREIRA et al. , 2004).

A produção de hidromel pode-se constituir como uma atividade econômica rentável porque é uma bebida com progressiva importância econômica devido ao aumento da demanda de produtos fermentados. Atualmente, no mercado nacional, uma garrafa de hidromel de 750 mL chega a custar R\$50,00, evidenciando uma atividade economicamente viável para o apicultor. A produção de uma bebida diferenciada com sabor peculiar de uma fruta do semiárido baiano facilitará o uso de matérias primas típica da região mediante a aplicação de uma tecnologia que visa a obtenção de um produto padronizado e com qualidade.

O Brasil é o terceiro produtor mundial de frutas frescas e é responsável por 11% das 350 milhões de toneladas colhidas anualmente ao redor do planeta. Sabe-se que a Bahia possui um papel central neste cenário, sendo responsável por 20% das exportações brasileiras de frutas frescas (SEBRAE, 2011). O gênero *Spondias* pertence à família Anarcadiaceae e possui espécies encontradas em diversos locais do mundo, na região tropical (Américas, África, Ásia e Oceania). No Nordeste brasileiro, notadamente na Bahia, é encontrada principalmente a espécie *Spondias tuberosa* Arruda Câmara (PIRES, 1990). O umbu é um fruto rico em carboidratos e teores significativos das vitaminas A, B<sub>1</sub> e ácido ascórbico; apresentando grande potencial para aproveitamento industrial. O feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) faz parte do grupo das leguminosas amiláceas, é considerada como uma das mais importantes sementes comestíveis, sendo uma fonte de proteínas e aminoácidos essenciais, fibras alimentares, assim como vitaminas e minerais. Amplamente cultivado em todo o Brasil predominantemente no sertão semiárido da região Nordeste.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

Obter uma bebida fermentada de mel suplementada com polpa comercial de umbu (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara) e extrato de feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) na produção de hidromel e contribuir por meio do estudo do uso de fontes alternativas de nutrientes.

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Realizar a caracterização físico-química do mel da polpa comercial de umbu e do extrato de feijão caupi;
- Selecionar levedura adequada para a produção do hidromel, mediante o teste de produção de sulfeto de hidrogênio;

- Avaliar através de um planejamento fatorial 2<sup>3</sup>, com triplicata do ponto central, o efeito das concentrações dos mostos, da polpa comercial de umbu e de extrato de feijão caupi na fermentação de mel por *Saccharomyces bayanus* Premier Blanc;
- Realizar a produção de hidromel em escala piloto, utilizando a melhor condição do planejamento fatorial.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. MEL

##### 3.1.1. Definição e origem

O mel é a substância viscosa, aromática e açucarada obtida a partir do néctar das flores e/ou exsudatos sacarínicos que as abelhas melíferas produzem (EMBRAPA, 2002). É um produto natural muito apreciado desde a pré-história, sendo uma das formas concentradas de açúcar disponível no mundo inteiro (FAO, 1996). Segundo a Instrução Normativa nº 11, de 20/11/2002, o mel é por definição “*produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas a partir do néctar de plantas ou a partir de secreções de partes vivas de plantas ou secreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam por combinação com substâncias que elas próprias produzem, depositam, desidratam e armazenam nas colmeias para posterior maturação*” (BRASIL, 2002).

O mel é uma solução concentrada de açúcares com predominância de glicose e frutose, contém ainda uma mistura complexa 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. A legislação brasileira não permite a adição de açúcares e/ou outras substâncias que alterem a composição original do mel (BRASIL, 2000).

##### 3.1.2. Classificação

O mel é classificado quanto a sua origem, procedimento de obtenção e apresentação/processamento:

Segundo sua origem

1. Mel floral: obtido dos néctares das flores.
  - a) Mel unifloral ou monofloral: Quando o produto procede principalmente de flores de uma mesma família, gênero ou espécie e possua características sensoriais, físico-químicas e microscópicas próprias.

- b) Mel multifloral ou polifloral: Obtido a partir de diferentes origens florais.
- 2. Melato ou Mel de Melato: Obtido principalmente a partir de secreções das partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que se encontram sobre elas.

Segundo o procedimento de obtenção de mel

- 1. Mel escorrido: obtido por escorrimento dos favos desoperculados, sem larvas.
- 2. Mel prensado: obtido por prensagem dos favos, sem larvas.
- 3. Mel centrifugado: obtido por centrifugação dos favos desoperculados, sem larvas.

Segundo sua apresentação e/ou processamento

- 1. Mel: produto em estado líquido, cristalizado ou parcialmente cristalizado.
- 2. Mel em favos ou mel em secções: produto armazenado pelas abelhas em células operculadas de favos novos, construídos por elas mesmas, que não contenham larvas e comercializado em favos inteiros ou em secções de tais favos.
- 3. Mel com pedaços de favo: produto que contém um ou mais pedaços de favos com mel, isentos de larvas.
- 4. Mel cristalizado ou granulado: produto que sofreu um processo natural de solidificação, como consequência da cristalização dos açúcares.
- 5. Mel cremoso: produto com estrutura cristalina fina e que pode ter sido submetido a um processo físico, que lhe confira essa estrutura e que o torne fácil de untar.
- 6. Mel filtrado: produto submetido a um processo de filtração, sem alterar o seu valor nutritivo (BRASIL, 2000).

### 3.1.3. Composição físico-química

A composição química do mel pode interferir na qualidade do hidromel (ARRÁEZ-ROMÁN et al., 2006). Há uma grande variação na composição química e física do mel, devido principalmente, das fontes vegetais (origem floral) das quais o mel é elaborado, mas também de diferentes fatores, como o solo, a espécie da abelha, o estado fisiológico da colônia, o estado de maturação do mel, as condições meteorológicas quando da colheita, além das condições de processamento e armazenamento (SILVA et al., 2004; ARRÁEZ-ROMÁN et al., 2006).

Apesar de o mel ser basicamente uma solução saturada de açúcares, água e diversos, por detrás dessa aparente simplicidade, esconde-se um dos produtos biológicos mais complexos (CAMPOS, 1987). A composição físico-química do mel é apresentada na Tabela 1.

**Tabela 1.** Composição físico-química do mel.

Componente	Composição básica do mel		
	Média	Desvio-padrão	Variação
Água (%)	17,2	1,46	13,4-22,9
Frutose (%)	38,19	2,07	27,25-44,26
Glicose (%)	31,28	3,03	22,03-40,75
Sacarose (%)	1,31	0,95	0,25-40,75
Maltose (%)	7,31	2,09	2,74-15,98
Açúcares totais (%)	1,50	1,03	0,13-8,49
Outros (%)	3,1	1,97	0,00-13,20
pH	3,91	-	3,42-6,10
Acidez livre (meq/kg)	22,03	8,22	6,75-47,19
Lactose (meq/kg)	7,11	3,52	0,00-18,76
Acidez total (meq/kg)	29,12	10,33	8,68-59,49
Lactose/Acidez livre	0,335	0,135	0,00-0,950
Cinzas	0,169	0,15	0,020-1,028
Nitrogênio	0,041	0,026	0,00-0,133
Diástase	20,8	9,76	2,10-61,20

Fonte: EMBRAPA (2004)

A composição química do mel é complexa e variável, incluindo mais de 200 substâncias (ARRÁEZ-ROMÁN et al., 2006), sendo os carboidratos e a água os principais constituintes. Além dos ácidos orgânicos, enzimas, vitaminas, flavonóides, minerais e uma extensa variedade de compostos orgânicos, que contribuem para sua cor, odor e sabor (FINOLA et al., 2007; ESTEVINHO et al., 2012; IGLESIAS et al., 2012).

### 3.1.3.1. Carboidratos

Os carboidratos correspondem a aproximadamente 80% (m/m) da composição total do mel (WHITE, 1975). Os principais açúcares são a frutose (38,4%), glicose (30,3%) e sacarose (1,3%) (IURLINA; FRITZ, 2005). Outros açúcares como maltose, isomaltose e polissacarídeos podem ser encontrados em pequenas quantidades, a soma deles (12 %) (ANKLAM, 1998; FINOLA et al., 2007). Os diferentes teores desses tipos de açúcares podem proporcionar modificações físicas, tais como: viscosidade, densidade, granulação, higroscopicidade, valor energético e cristalização no mel (CAMPOS, 1987; ANKLAM, 1998).

A porcentagem de frutose em relação à glicose depende da fonte de néctar (ANKLAM, 1998). Os méis multiflorais tendem a apresentar conteúdo de frutose e glicose semelhante, enquanto nos monoflorais, os teores de frutose são significativamente maiores. A proporção frutose:glicose pode influenciar no sabor do mel (FINOLA et al., 2007), pois a frutose é mais doce que a glicose (CRANE, 1987). Além disso, o mel com maior conteúdo de frutose do que glicose permanece no estado líquido por períodos maiores, isso porque a glicose é menos solúvel em água do que a frutose. Assim, o teor de glicose no mel influencia expressivamente na cristalização do mel (FINOLA et al., 2007).

Um conteúdo elevado de sacarose aparente no mel pode significar uma colheita prematura, já que a sacarose ainda não foi totalmente dissociada em glicose e frutose, pela ação da enzima invertase, secretada pelas abelhas (KÜÇÜK et al., 2007). Pode indicar, ainda, uma adulteração do mel, para este parâmetro, o valor máximo permitido no mel é 5%, podendo existir exceções para alguns tipos de mel (SODRÉ et al., 2007).

Além dos açúcares, a água presente no mel tem papel importante na sua qualidade e característica.

### 3.1.3.2. Umidade

O conteúdo da água do mel pode variar de 15% a 21%, sendo normalmente encontrados níveis de 17% (MENDES; COELHO, 1983). A legislação brasileira estabelece um teor de umidade máximo de 20 % para méis florais ou de melato (BRASIL, 2000). O mel com um conteúdo de água excessivo pode apresentar dificuldades na preservação e armazenamento (OLAITAN et al., 2007), devido à presença dos microrganismos osmofílicos do gênero *Saccharomyces* (tolerantes ao açúcar), presentes nos corpos das abelhas, no néctar, no solo, nas áreas de extração e armazenamento, podem com o aumento no teor de umidade neste alimento, produzir etanol e dióxido de carbono; com a presença de oxigênio, o etanol poderá ser convertido em ácido acético, prejudicando o aroma e sabor do mel (WHITE, 1975). Este fato poderia ter influência na sua viscosidade, mudanças no peso específico, sabor, conservação e palatabilidade (SEEMANN; NEIRA, 1988 apud MARCHINI, 2001). O conteúdo de água contribui assim para a detecção da estabilidade do mel prevenindo a sua fermentação e granulação durante o armazenamento (KÜÇÜK et al., 2007).

A água disponível é determinada pela atividade de água ( $A_w$ ), fator que influencia na estabilidade microbiológica do mel que pode variar entre 0,55 a 0,75. Os méis com uma  $A_w \leq 0,60$  são biologicamente estáveis.

Segundo Crane (1987), a maior possibilidade de fermentação do mel está ligada ao maior teor de umidade e presença de leveduras. O processo de fermentação pode ocorrer mais facilmente naqueles méis chamados “verdes”, ou seja, méis que são colhidos de favos que não tiveram seus alvéolos devidamente operculados pelas abelhas; nessa situação, o mel apresenta teor elevado de água (FARIA, 1983).

#### 3.1.3.3. Vitaminas e Minerais

Os minerais (teor de cinzas do mel) estão presentes no mel em pequenas quantidades, em geral, variam de 0,1% a 1,0% (BOGDANOV, 1999). Entre os elementos químicos inorgânicos podem-se citar: cálcio, cloro, cobre, ferro, manganês, magnésio, fósforo, boro, potássio, silício, sódio, enxofre, zinco, nitrogênio, iodo, rádio, estanho, ósmio, alumínio, titânio e chumbo, dando valores de 0,15% a 0,25% do peso total do mel (WHITE JUNIOR, 1975; PAMPLONA, 1989).

Embora em concentrações ínfimas, vitaminas, tais como: B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, C e D também são encontradas no mel, sendo facilmente assimiláveis pela associação a outras substâncias como o hidrato de carbono, sais minerais, oligoelementos, ácidos orgânicos e outros.

#### 3.1.3.4. Proteínas

O teor de proteína do mel é geralmente em torno de 0,2% (m/m), sendo que algumas proteínas são derivadas de abelhas, enquanto que outras vêm do néctar (ANKLAM, 1998; IURLINA; FRITZ, 2005). Uma pequena porção desta fração consiste das enzimas invertase, amilase, glucose oxidase, catalase,  $\alpha$ -glucosidase e  $\beta$ -glicosidase (ANKLAM, 1998). Assim, a atividade enzimática pode indicar a exposição do mel ao calor durante o processamento e armazenamento. A proteína do mel tem duas origens, vegetal e animal, sua origem vegetal advém do néctar e do pólen e sua origem animal é proveniente da própria abelha (WHITE JUNIOR et al., 1978). Wootton et al. (1976) constataram em seis amostras de mel australianas os seguintes aminoácidos livres: leucina, isoleucina, histidina, metionina, alanina, fenilalanina, glicina, ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutâmico, prolina, valina, cisteína, tirosina, lisina e arginina. Dentre esses aminoácidos, a prolina, proveniente das secreções salivares das abelhas, é o que apresenta os maiores valores, variando entre 0,2% e 2,8%. Juntamente com o conteúdo de água, sua concentração é usada como um parâmetro de identificação da “maturidade” do mel (COSTA et al., 1999).

### 3.1.3.5. Enzimas

A adição de enzimas pelas abelhas ao néctar poderia causar mudanças químicas tais como aumentar a quantidade de açúcares redutores, o que não seria possível sem essa ação enzimática. A enzima invertase adicionada pelas abelhas transforma 3/4 da sacarose inicial do néctar coletado nos açúcares glicose e frutose, ao mesmo tempo que açúcares superiores são sintetizados, não sendo presentes no material vegetal original. Sua ação é contínua até que o “amadurecimento” total do mel ocorra. Dessa forma, pode-se definir o amadurecimento do mel como a inversão da sacarose do néctar pela enzima invertase e sua simultânea mudança de concentração. A enzima invertase irá permanecer no mel conservando sua atividade por algum tempo, a menos que seja inativada pelo aquecimento; mesmo assim, o conteúdo da sacarose do mel nunca chega a zero. Essa inversão de sacarose em glicose e frutose produz uma solução mais concentrada de açúcares, aumentando a resistência desse material à deterioração por fermentação e promovendo assim o armazenamento de um alimento altamente energético em um espaço mínimo (CRANE, 1987).

Diversas enzimas como a diástase, catalase,  $\alpha$ -glicosidase, peroxidase, lipase, amilase, fosfatase ácida e inulase foram detectadas no mel (SCHEPARTZ & SUBERS, 1966; WHITE JUNIOR & KUSHINIR, 1967; HUIDOBRO et al., 1995). A diástase quebra o amido, sendo sua função na fisiologia da abelha ainda não claramente compreendida, podendo estar envolvida com a digestão do pólen. Como a diástase apresenta alto grau de instabilidade em temperaturas elevadas, sua presença ou não se faz importante na tentativa de detectar possíveis aquecimentos do mel comercialmente vendido, apesar de que também em temperatura ambiental ela pode vir a se degradar em armazenamento prolongado. A catalase e a fosfatase são enzimas que facilitam a associação açúcar-álcool (WESTON; BROCKLEBANK, 2000) a catalase presente no mel se origina do pólen da flor e sua quantidade no mel depende da fonte floral e da quantidade de pólen coletado pelas abelhas.

A glicose oxidase, que em soluções diluídas é mais ativa (WHITE JUNIOR, 1975) reage com a glicose formando ácido glucônico (principal composto ácido do mel) e peróxido de hidrogênio, esse último capaz de proteger o mel contra a decomposição bacteriana até que o conteúdo de açúcares esteja alto o suficiente para fazê-lo (SCHEPARTZ et al., 1966; MENDES & COELHO, 1983).

A principal substância antibacteriana do mel é o peróxido de hidrogênio, cuja concentração é dependente tanto dos níveis de glicose-oxidase, quanto de catalase, uma vez que a catalase destrói o peróxido de hidrogênio (WESTON et al., 2000).

### 3.1.3.6. Ácidos Orgânicos

Os ácidos orgânicos são os responsáveis pela acidez do mel e contribuem consideravelmente para o seu sabor característico (ANKLAM, 1998). Constituem cerca de 0,57% do mel, e incluem o ácido glucônico, que é produzido pela ação da enzima glicose-oxidase sobre a glicose, presente em maior quantidade, cuja presença relaciona-se com as reações enzimáticas que ocorrem durante o processo de amadurecimento (OLAITAN et al., 2007). Em menor quantidade, podem-se encontrar outros ácidos como: acético, butírico, láctico, oxálico, fórmico, málico, succínico, pirúvico, glicólico, cítrico, butiricolático, tartárico e maléico (STRISON et al., 1960; WHITE JUNIOR, 1975; MENDES & COELHO, 1983).

Valores de acidez abaixo do limite máximo estabelecido, 50 meq de ácidos por 1000 g de mel, indicam a ausência de fermentações indesejáveis (FINOLA *et al.*, 2007), pois a presença de leveduras xerotolerantes pode ser responsável pelo aumento da sua acidez (DE RODRÍGUEZ et al., 2004). Os méis multiflorais apresentam valores de acidez inferiores, que dependem dos fatores de tipo floral e a época de colheita do mel (DE RODRÍGUEZ et al., 2004; KÜÇÜK et al., 2007).

O pH do mel varia entre 3,4 e 6,1 com um valor médio de 3,9 (CODEX ALIMENTARIUS, 2001), no entanto, este parâmetro não está diretamente relacionado com a acidez livre devido à ação tampão dos ácidos e minerais presentes no mel (DE RODRIGUEZ et al., 2004).

### 3.1.3.7. Hidroximetilfurfural

O Hidroximetilfurfural (HMF) é um aldeído cíclico formado pela degradação de açúcares, resultando na redução do valor nutricional do mel e conseqüentemente do hidromel. Este composto resulta da desidratação de hexoses em condições ácidas e a sua cinética de formação varia diretamente com a temperatura, assim é um indicador de superaquecimento e armazenamento em condições impróprias do mel e do hidromel (VARGAS, 2006; FALLICO et al., 2008; KAHOUN et al., 2008). Também indicador de qualidade baseado geralmente em que é encontrado em pequenas quantidades em méis recém-colhidos (mel fresco), os valores elevados de HMF podem indicar alterações importantes provocadas por armazenamento prolongado em temperatura ambiente alta e/ou superaquecimento, além das adulterações provocadas por adição de açúcar invertido (SILVA et al., 2004).

A formação de HMF ocorre devido à desidratação de hexose catalisada por ácidos, aliada às propriedades químicas do mel tais como pH, umidade, acidez total e minerais (FALLICO et al., 2004).

#### 3.1.3.8. Compostos voláteis

Os compostos voláteis do mel são responsáveis pelo seu *flavour* característico (FINOLA et al., 2007). Muitos destes compostos provêm do néctar das flores, e já foram identificados mais de 300, incluindo ácidos, álcoois, cetonas, aldeídos, terpenos e ésteres (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2009). A presença destes compostos pode fornecer informações acerca da origem botânica do mel, e se foi produzido pelas abelhas a partir do néctar das flores ou de exsudados secretados pelas plantas ou insetos (ESCRICHE et al., 2009).

#### 3.1.3.9. Compostos fenólicos

O mel contém, ainda, uma enorme variedade de compostos fenólicos tais como flavonóides e ácidos fenólicos como constituintes secundários. Os principais flavonóides presentes no mel pertencem aos grupos das flavanonas e flavonas, entre eles a miricetina, tricetina, quercetina, hesperatina, luteolina, caempferol, pinocembrina, crisina, pinobanksina, genkvanina e galangina (ANKLAM, 1998).

#### 3.1.3.10. Cor

Em relação às características sensoriais, a cor do mel é variável, devendo ter sabor e aroma 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 varia do quase transparente ao âmbar escuro e o gosto e níveis de açúcar dependem da espécie de abelha que a produziu, da época, da região e, principalmente, da florada (AZEREDO et al., 1999). Além da origem botânica, a cor pode variar com a idade e as condições de armazenagem do mel. No entanto, a transparência ou claridade do mel depende da quantidade de partículas em suspensão, tais como o pólen (OLAITAN et al., 2007). A variedades das cores dos méis está apresentada na Figura 1.

**Figura 1.** Exemplo da variedade de cores do mel de *Apis mellifera*



**Fonte:** EMBRAPA (2002).

Seu aroma, paladar, coloração, viscosidade e propriedades medicinais estão diretamente relacionados com a fonte de néctar que o originam, quanto mais escuro for o mel, mais rico será em minerais (EMBRAPA, 2002). Contudo, geralmente este foi mais desvalorizado economicamente, uma vez que os méis claros foram mais aceitos no mercado mundial (CODEX ALIMENTARIUS, 2001). A cor do mel depende de vários fatores como a pureza do mel, variações no clima durante o fluxo do néctar, temperatura de amadurecimento na colmeia, processamento, exposição à luz, tempo de estocagem e possíveis reações entre os componentes presentes no mel (KOLBLITZ, 2011).

A Tabela 2 mostra a variação das cores do mel, conforme Bianchi (1981), desde o branco-água até o âmbar escuro. O que determina a intensidade da cor do mel (mm) é a absorvância do mesmo, a um comprimento de onda de 635 nm.

**Tabela 2.** Escala de Pfund para correlação entre a cor do mel e suas respectivas absorvâncias a 635 nm.

Mel	Cor (mm)	Absorvância (635 nm)
Branco-água	0 - 7,9	0,104 – 0,124
Extra-banco	8 - 16,4	0,125 – 0,147
Branco	16,5 - 33,9	0,148 – 0,194
Âmbar extra claro	34 – 49,9	0,195 – 0,237
Âmbar claro	50 – 84,9	0,238 – 0,322
Ambar escuro	114 ou mais	0,411 ou mais

**Fonte:** Adaptado de Bianchi (1981).

A variação na cor do mel tem influência na preferência do consumidor visto que, segundo Peralta e Koblitz (2011), os méis de laranjeira são bastante procurados pelos

consumidores não somente pelo seu sabor suave, mas também pela sua cor clara. As mesmas autoras ainda ressaltam que no International Trade Forum de 1979 que a cor foi considerada uma das características, para o mel, de especial relevância no mercado internacional. Para a elaboração de produtos fermentados como, por exemplo, hidroméis, os méis escuros são indesejáveis devido ao forte (e desagradável) aroma que proporcionam a essas bebidas durante e após a fermentação (JOSHI; SHANDU; THAKUR, 1999).

Qualquer mel pode ser utilizado para produção de hidromel, desde que é colhido de modo adequado e higiênico. Entretanto um mel com alto teor de minerais (que poderá apresentar coloração mais escura) irá favorecer o crescimento das leveduras, reduzindo o tempo de adaptação requerido conforme descrito por Kempka e Mantovani (2013), que produziram hidroméis a partir de méis de diferentes floradas, com coloração e teor de minerais variados, sendo que aqueles com maior teor de minerais apresentaram fermentação mais rápida e maior teor de etanol.

#### 3.1.3.11. Propriedades terapêuticas

É uma excelente opção nutricional devido aos seus benefícios demonstrados para a saúde, efeito bactericida, anti-séptico, anti-reumático, diurético, digestivo, prevenção de gripes e constipações (CUEVAS-GLORY et al., 2007).

A utilização dos produtos das abelhas com fins terapêuticos é denominada apiterapia, vem-se desenvolvendo consideravelmente em vários países, um deles a Alemanha que adotaram já como prática oficial na sua rede pública de saúde por seus efeitos benéficos. (EMBRAPA, 2004). Na França e a Itália, vêm objetivando a produção de mel com propostas terapêuticas específicas, como nos tratamentos de úlceras e problemas respiratórios (YANIV, RUDICH, 1996).

Apesar do homem fazer uso do mel para fins terapêuticos desde tempos remotos, sua utilização como um alimento único, de características especiais, deveria ser o principal atrativo para o seu consumo, infelizmente, a população brasileira, de maneira geral, não o encara dessa forma, considerando-o mais como um medicamento do que como alimento, passando a consumi-lo apenas nas épocas mais frias do ano, quando ocorre um aumento de casos patológicos relacionados aos problemas respiratórios. No Brasil, seu consumo como alimento ainda é muito baixo (aproximadamente 300 g/ habitante/ano), principalmente ao se comparar com países como os Estados Unidos e os da Comunidade Europeia e África, que podem chegar a mais de 1kg/ano por habitante (PEREIRA et al., 2004).

Sua propriedade antibacteriana já foi amplamente confirmada em diversos trabalhos científicos (ADCOCK, 1962; WHITE et al., 1963; DUSTMANN, 1978; MOLAN, RUSSELL, 1988; ALLEN et al., 1991; CORTOPASSI-LAURINO, GELLY, 1991), como também seu potencial antioxidante (ROSENBLAT et al., 1996), sua ação fungicida (EFEM et al., 1992), cicatrizante (BERGMAN et al., 1983; EFEM, 1988; GREEN, 1988; GUPTA et al., 1993) e promotora da epitelização das extremidades de feridas (EFEM, 1988).

Segundo Adcock (1962), Molan (1992) e Wahdan (1998), os responsáveis por essa atividade antimicrobiana são os fatores físicos, como sua alta osmolaridade e acidez, e os fatores químicos relacionados com a presença de substâncias inibidoras, como o peróxido de hidrogênio, e substâncias voláteis, como os flavonóides e ácidos fenólicos.

Como o mel contém a maioria dos elementos químicos essenciais para o organismo sua inclusão na dieta diária como mostra-se na Tabela 3 ajudaria a eliminar sua deficiência e aumentar a resistência imunológica (WHITE JUNIOR, 1979). O mel é um alimento funcional que, por apresentar frutoligossacarídeos (FOS), exerce a atividade probiótica e tem como efeito, a regulação do trânsito intestinal, regulação da pressão arterial, redução do risco de câncer e dos níveis de colesterol. Alimentos funcionais são definidos como qualquer substância ou componente de um alimento que proporciona benefícios para a saúde, inclusive a prevenção e o tratamento de doenças (ANJO, 2004).

**Tabela 3.** Nutrientes do mel em relação aos requerimentos humanos.

<b>Nutriente</b>	<b>Unidade</b>	<b>Quantidade em 100 g de mel</b>	<b>Ingestão diária recomendada</b>
Energia	Caloris	339	2800
Vitamina			
A	U.I	-	5000
B1	mg	0,004 – 0,006	1,5
Complexo B2			
Riboflavina	mg	0,02 – 0,06	1,7
Niacina	mg	0,11 – 0,36	20
B6	mg	0,008 – 0,32	2
Àcido Pantotenico	mg	0,02 – 0,11	10
Ácido Fólico	mg	-	0,4
B12	mg	-	6
C	mg	2,2 – 2,4	600

D	U.I.	-	400
E	U.I	-	30
Biotina	mg	-	0,330

**Fonte:** MAPA (2000).

#### 3.1.4. Padrões de qualidade do mel

A Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000 estabelece as análises físico-químicas necessárias para a avaliação da qualidade do mel (BRASIL, 2000). Os padrões de identidade e qualidade (PIQ) do mel são mostrados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Padrão de identidade e qualidade do mel.

<b>Parâmetro</b>	<b>Mel floral</b>	<b>Melato</b>
Acúcares redutores (g 100 g <sup>-1</sup> )	Mínimo 65	Mínimo 60
Sacarose aparente (g 100 g <sup>-1</sup> )	Máximo 6	Máximo 15
Umidade (g 100 g <sup>-1</sup> )	Máximo 20	Máximo 20
Sólidos insolúveis em água (g 100 g <sup>-1</sup> )	Máximo 0,1	Máximo 0,1
Minerais (g 100 g <sup>-1</sup> )	Máximo 0,6	Máximo 1,2
Acidez (mEq 100 g <sup>-1</sup> )	Máximo 50	Máximo 50
Hidroximetilfurfural (mg 100 kg <sup>-1</sup> )	Máximo de 60	Máximo de 60

**Fonte:** Adaptado de Brasil (2000).

##### 3.1.4.1. Produção de mel no Brasil

A produção de mel brasileira nos últimos anos apresentou um discreto aumento, o Brasil se encontra no 11º lugar no ranking de produção mundial de mel, com uma produção de 41.578 toneladas ao ano no 2013 (Tabela 5). A China lidera o ranking com a produção de 466.300 toneladas ao ano (FAO, 2015).

**Tabela 5.** Evolução da produção mundial de mel entre os anos 2007 e 2013.

Posição	País	Produção mundial de mel natural (toneladas)						
		2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
1°	China	357.220	407.219	407.367	409.149	446.089	462.203	466.300
2°	Turquia	73.935	81.364	82.003	81.115	94.245	89.162	94.694
3°	Argentina	81.000	72.000	62.000	59.000	76.000	80.000	80.000
4°	Ucrânia	67.700	74.900	74.100	70.900	70.300	70.134	73.713
5°	Rússia	53.655	57.440	53.598	51.535	60.010	64.898	68.446
6°	Estados Unidos	67.286	74.293	66.413	80.042	67.294	64.544	67.812
7°	Índia	51.000	55.000	55.000	60.000	60.000	60.000	61.000
8°	México	55.459	59.682	56.071	55.684	57.783	58.602	56.907
9°	Etiópia	42.180	42.000	41.525	53.675	39.892	45.905	45.000
10°	Irã	47.000	41.000	46.000	47.000	47.500	45.000	44.000
11°	Brasil	34.747	37.792	38.974	38.017	41.578	34.747	41.578
12°	Canadá	31.489	29.440	31.920	33.710	35.520	41.113	34.640

**Fonte:** Brunelli (2015).

Para Gomes (2010, p. 12), a produção de mel é uma atividade de grande importância e que vem se destacando como matéria-prima para a fabricação de novos produtos:

A apicultura é uma atividade com impactos significativos positivos, tanto sociais como econômicos. É uma das atividades mais antigas e importantes do mundo, ligada à produção de mel, geleia real, própolis, cera e pólen. O mel é um produto natural utilizado pelo homem desde os tempos mais remotos, sendo atualmente o seu aproveitamento visto como uma possível alternativa na produção de novos produtos.

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 para a 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. O Brasil apresenta características especiais de flora e clima que, aliado à presença da abelha africanizada, lhe conferem um excelente potencial para a atividade apícola, ainda pouco explorado (PEREIRA et al., 2009).

No país, a maior parte da produção advém de pequenos e médios apicultores que possuem, em média, menos de 100 colmeias, com produtividade estimada em torno de 30 quilos anuais de mel por colmeia (PORTAL BRASIL, 2015). A região Sul representa 49% da produção de mel do país, enquanto que o somatório dos principais estados do Nordeste e Sudeste representam 18 % e 17 %, respectivamente (SEBRAE, 2014).

### 3.2. HIDROMEL

#### 3.2.1. Definição

O hidromel é uma bebida reconhecida como das mais antigas consumidas pelo homem, talvez mesmo antes do vinho e é provavelmente a precursora da cerveja. O vinho do mel (hidromel) trata-se de uma bebida fermentada à base de mel, água e leveduras, podendo ser adicionado ervas, especiarias e frutas, quanto seu teor alcoólico pode variar de 8 a 18% em volume de álcool (PEREIRA, 2008).

O Hidromel, segundo o Decreto n. 6871 de 4 de julho de 2009, “... é a bebida com graduação alcoólica de 4 a 14 % em volume, 20 °C, obtida pela fermentação alcoólica de solução de mel de abelha, sais nutrientes e água potável” (BRASIL, 2009). A Instrução Normativa n° 34 de 29 novembro de 2012 estabelece os parâmetros legais para o hidromel (Tabela 6), além de ressaltar que não é permitido o uso de açúcar (sacarose) para a elaboração dessa bebida (BRASIL, 2012).

**Tabela 6.** Padrão de identidade e qualidade do hidromel.

Parâmetros	Limite Mínimo	Limite Máximo	Classificação
Acidez fixa (mEqL <sup>-1</sup> )	30	---	
Acidez total (mEqL <sup>-1</sup> )	50	130	
Acidez volátil (mEqL <sup>-1</sup> )	---	20	
Anidrido sulfuroso (g L <sup>-1</sup> )	---	0.35	
Cinzas (g L <sup>-1</sup> )	1.5	---	
Cloretos totais (g L <sup>-1</sup> )	---	0.5	
Extrato seco reduzido (g L <sup>-1</sup> )	7	---	
Graduação alcoólica (% v/v a 20°C)	4	14	
	---	<3	Seco
Teor de açúcar (g L <sup>-1</sup> )	>3	---	Suave

**Fonte:** Instrução Normativa n° 34 (BRASIL, 2012).

Além do hidromel tradicional, existem diversas variedades de hidromel registradas na literatura que podem ser produzidas mediante a adição de frutas e ervas. A Tabela 6 apresenta algumas variações na produção de hidromel e suas matérias primas.

**Tabela 7.** Denominações dos diferentes tipos de hidroméis e suas matérias-primas.

<b>Denominação</b>	<b>Ingredientes</b>
Mead	Bebida fermentada de água e mel
Great mead	Hidromel envelhecido
Melomel	Hidromel com adição de frutas (exceto uvas)
Pyment	Hidromel com adição de uvas (preferencialmente uvas viníferas)
Cyser	Hidromel com adição de maca
Metheglin	Hidromel com adição de especiarias, lúpulo e até pétalas de rosa
Braggot	Hidromel com adição de malte
Hippocras	Hidromel com adição de pimentas

**Fonte:** BERRY (2007).

Antigamente, na produção do hidromel, a fermentação alcoólica era resultado do crescimento de microrganismos selvagens naturalmente presentes no mel. Nestes casos, a fermentação alcoólica é imprevisível e, muitas vezes, torna o hidromel intragável pela presença de leveduras contaminantes e de bactérias que alteram as propriedades sensoriais. Recentemente, cepas selecionadas e leveduras comerciais têm sido usadas para reduzir os riscos de contaminação e para se ter maior controle durante o processo fermentativo. A levedura da estirpe *Saccharomyces cerevisiae*, utilizada na produção de vinho, champagne e de cerveja, tem sido utilizada com sucesso na produção de hidromel (PEREIRA et al., 2009; MENDES-FERREIRA et al., 2010; ROLDAN et al., 2011; AMORIM et al., 2018).

As etapas de produção do hidromel incluem a preparação e correção do mosto, preparo do pé de cuba, inoculação de leveduras, fermentação, clarificação, maturação e envase (MATIETTO et al., 2006).

De acordo com Gupta e Sharma (2009), o hidromel possui muitos elementos nutricionais requisitados pelo organismo e tem efeitos favoráveis na digestão, metabolismo assim como vantagens no tratamento de anemia e de doenças crônicas e do trato gastrointestinal. Na produção de hidromel, o preparo do mosto, e principalmente a concentração

de açúcares (°Brix), como também a determinação final da fermentação são parâmetros que estabelecem os diferentes tipos de hidromel (GUPTA, SHARMA, 2009).

### 3.2.2. Aspectos tecnológicos da produção de hidromel

Gupta e Sharma (2009) descreveram que a metodologia convencional usada na produção de hidromel, que envolve longos períodos de exposição do mosto, mel e da bebida acabada ao calor, está diretamente relacionada com a produção de sabor desagradável (sabor de borracha e resina). As condições dos processos de fermentação comercial, tais como o pH, a temperatura e os componentes do meio, geralmente não são divulgados, mas sujeitos a sigilo absoluto. O "meio de fermentação ideal" não se encontra bem definido e seu desenvolvimento é uma mistura de arte e ciência. A otimização do meio de fermentação representa um custo significativo e implica em tempo para o desenvolvimento do bioprocessamento.

O objetivo da otimização é determinar as condições adequadas em termos de pH, temperatura, composição do meio, dentre outros fatores, de forma a maximizar ou minimizar econômica e tecnologicamente as variáveis importantes do processo, tais como o rendimento do processo, a concentração do produto e os custos (ZABRISKIE et al., 1982; GOMES, 2010).

A adição de grão de pólen (10 a 50 g L<sup>-1</sup>) no mosto do hidromel pode promover a melhora nas taxas de fermentação, na produção de álcool e nos atributos sensoriais da bebida. Além disso, o uso do pólen proporciona a redução da acidez total na bebida (ROLDAN et al., 2011). O uso de mel com maior quantidade de pólen em sua composição resulta em fermentação mais rápida, pois os pólenes são fornecedores de compostos nitrogenados para as leveduras (VIDRIH; HRIBAR, 2007).

Há estudos científicos que recomendam o pré-aquecimento do mosto antes da fermentação, isto é, pasteurizá-lo. Este tratamento térmico ocasiona o aumento na vida de prateleira da bebida (UKPABI, 2006).

A melhoria da qualidade do hidromel é devido ao desenvolvimento de suplementos nutricionais e à otimização apropriada das condições de fermentação (MENDES-FERREIRA et al., 2010). A suplementação nutricional do mosto reduz o tempo de fermentação, assim como evita o desenvolvimento de microrganismos responsáveis pela produção de aromas desagradáveis e aumenta a vida de prateleira do hidromel (MORSE; STEINKRAUS, 1971).

O hidromel pode ser feito com mel e com a adição de outros materiais tais como ervas, sucos de maçãs, suco de uva e malte. A suplementação de ingredientes é realizada para aperfeiçoar o sabor do hidromel. Por outro lado, a medicina faz o uso do mel e diversas ervas (KOGUCH, SAIGUSA, TERAMOTO, 2009).

Sucos de frutas, sais e ácidos orgânicos podem ser empregados como aditivos para estimular a fermentação e melhorar o aroma de diferentes tipos de hidromel (GUPTA, SHARMA, 2009; KOGUCHI, SAIGUSA, TERAMOTO, 2009). Segundo Gupta e Sharma (2009), as bebidas de mel apresentam pouco corpo e são muito doces, assim, frutas na forma de sucos, polpas ou em pedaços podem ser adicionadas para contribuir com acidez e também com fatores de crescimento que contribuam para a fermentação e com as características sensoriais.

### 3.2.2.1. Nutrientes e suplementação do mosto de mel

O mel é deficiente em nitrogênio, minerais e nutrientes importantes para o crescimento das leveduras; o que pode comprometer a fermentação alcoólica (GUPTA; SHARMA, 2009). Por isso, é necessário o emprego de suplementos nutricionais com a finalidade de otimizar as condições de fermentação (MENDES-FERREIRA et. al., 2010). De acordo com Morse (1980), a adição de ingredientes nutricionais em mosto de hidromel reduz o tempo de fermentação, evita o desenvolvimento de microrganismos contaminantes responsáveis pela produção de odores indesejáveis e, além disso, favorece o aumento da vida útil do produto. A Tabela 8 mostra as diferentes formulações de suplementos nutricionais em países da Ásia e Europa que podem ser usados na produção de hidromel e recentemente pelo Brasil por Amorim et al. (2018).

**Tabela 8.** Suplementos nutricionais usados na produção de hidromel.

País	Preparação	Tempo de fermentação (Dias)	Levedura	Temperatura de fermentação (°C)
Índia	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O MgSO <sub>4</sub> ZnSO <sub>4</sub> KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> Extrato de levedura peptona	> 90	<i>S. cerevisiae</i>	18-30
Portugal	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5	<i>S. cerevisiae</i> (QA23 3 IVC D47)	25
Portugal	Suplemento 1: nutrientes comerciais (Enovit <sup>R</sup> ) e (C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>6</sub> ) Suplemento 2: NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> KNaC <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>6</sub> ·4H <sub>2</sub> O MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O CaSO <sub>4</sub> C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>6</sub> Bentonita	25 - 30	<i>S. cerevisiae</i>	20-22
Portugal	Ácido málico (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	11 - 14	<i>S. cerevisiae</i> UCD522	25

Portugal	Nutrientes comerciais SO <sub>2</sub>	15	<i>S. cerevisiae</i> ph.r. bayanus PB2002	20-25 e 30
Eslováquia Espanha	Sem adição K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Polén	60-90	<i>Saccharomyces</i> <i>S. cerevisiae</i> , ENSISLES <sup>R</sup>	15 - 22 25
Brasil	Acerola, extrato de malte, extrato de levedura, peptona e sais (cloreto de magnésio, sulfato de amônio e fosfato de amônio bibásico)	>90	<i>S. cerevisiae</i> AWRI 796	30

**Fonte:** Adaptado de Iglesias et al. (2014).

Para solucionar este problema é necessário otimizar as condições da fermentação (GOMES et al., 2013). Assim, estudos como, seleção de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* (PEREIRA et al., 2009), utilização de leveduras imobilizadas (NAVRÁTIL et al., 2001), avaliação do efeito da temperatura (GOMES, et al., 2013; IGLESIAS et al., 2014) e trabalhos para verificar o efeito da suplementação de nutrientes, tais como: influência da adição do pólen (ROLDÁN et. al., 2011; KEMPKA, MATOVANI, 2013), suplementação de nitrogênio e adição de ácidos orgânicos (MENDES FERREIRA et al., 2010; GOMES et al., 2013; IGLESIAS et al., 2014), suplementação com sais e /ou vitaminas (PEREIRA et al., 2015), suplementação com polpa de acerola, extrato de malte, extrato de levedura, peptona e sais (AMORIM et al., 2018), suplementação com polpa de tamarindo, extrato de malte, peptona e sais (cloreto de magnésio e sulfato de amônio) (ANUNCIACÃO et al., 2017), Sais (sulfato de cálcio, fosfato de amônio bibásico, bitartarato de potássio e flor de enxofre, cloreto de sódio metabissulfito de sódio) e ácido tartárico (BARRIOS et al., 2010), Sais (sulfato de amônio, fosfato de amônio bibásico e cloreto de magnésio), Enovit<sup>®</sup> e pedaços de maçã do tipo Gala (FERRAZ, 2015), utilização de hidrocoloides naturais selecionados (SROKA; SATORA, 2017) têm sido desenvolvidos na elaboração do hidromel.

### 3.2.3. Importância Econômica

O hidromel é pouco conhecido em alguns países, mas que pode apresentar um grande potencial comercial. O hidromel é uma bebida que pode ter elevado valor agregado, o preço de uma garrafa de 750 mL de hidromel no exterior está na faixa de US\$ 10,00 a US\$ 20,00, podendo chegar a custar US\$ 70,00 dependendo da qualidade da bebida, enquanto que no mercado brasileiro uma garrafa de mesma capacidade pode apresentar preço de R\$ 50,00 (BERRY, 2007).

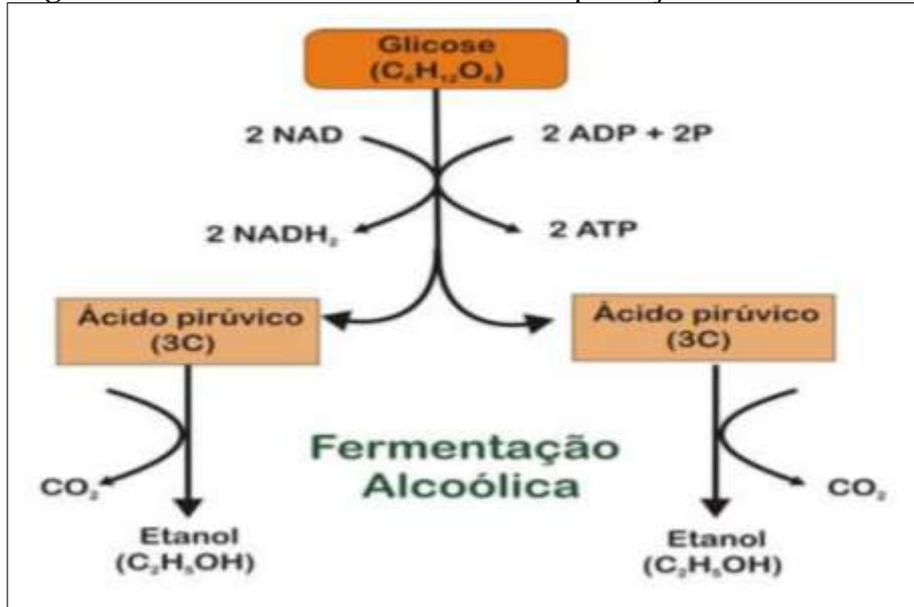
Atualmente a produção de hidromel tem sido desenvolvida por pequenos produtores. Até 2016 haviam 4 registrados no ministério da agricultura (MAPA, 2016). Entretanto em 2014 o I Encontro Nacional de Produtores de Hidromel 67 produtores artesanais foram encontrados distribuídos pelo país (CASA DO HIDROMEL, 2015) incentivando e fornecendo assim a outros produtores.

#### 3.2.4. Aspectos da Fermentação

É um processo tão antigo quanto revolucionário, em que bactérias e fungos alteram a estrutura dos alimentos ou dão a eles características gustativas melhores, estendendo seu tempo de vida. A presença silenciosa e discreta que boa parte das vezes passa despercebida, por mais relevante que seja à nossa alimentação. O chocolate fino não teria a mesma complexidade de sabor e aroma não fosse o longo processo de fermentação pelo qual o cacau passa. Também não haveria cerveja, vinho e salame. Tampouco a baunilha, o café e certos chás não teriam o sabor que têm (FIDALGO, 2013).

A principal rota metabólica envolvida na fermentação alcoólica em leveduras é a glicólise (rota Embden-Meyerhof-Parnas ou EMP), através da qual uma molécula de glicose é oxidada e duas moléculas de piruvato são produzidas (MADIGAN, MARTINKO, PARKER, 2000). No processo fermentativo as leveduras convertem os açúcares (glicose e frutose) em etanol (Figura 2). O processo de conversão que ocorre dentro da célula é dividido em duas etapas: A primeira etapa é a conversão do monossacarídeo em ácido pirúvico (piruvato), isso acontece através de uma sequência de dez reações enzimáticas, esta etapa é conhecida como glicólise. A segunda etapa acontece a partir do ácido pirúvico, em condições de anaerobiose ocorre fermentação alcoólica propriamente dita, dando origem então ao produto final mais comum neste processo, o etanol (MADIGAN et al., 2010).

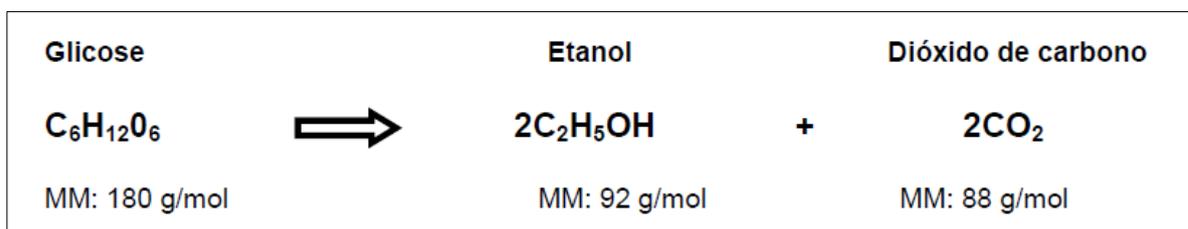
**Figura 2.** Conversão da Glicose em etanol pela ação das leveduras.



**Fonte:** Madigan et al. (2010).

Na fermentação alcoólica de açúcares, por ação de leveduras, os principais produtos obtidos em proporções equimolares são o etanol e o dióxido de carbono (Figura 3). Esse mecanismo foi determinado pela primeira vez por Gay-Lussac, onde 100 g de glicose rendem 51,1 g de etanol e 48,9 g de dióxido de carbono. O rendimento teórico de 51,1% em massa é conhecido como coeficiente de Gay-Lussac e é dado básico para cálculo de eficiência de conversão (JACMAN, 1991).

**Figura 3.** Conversão estequiométrica de glicose em etanol e dióxido de carbono (Equação de Gay-Lussac). (MM = Massa Molar).



**Fonte:** Jacman (1991).

O resultado da fermentação pode ser álcool, ácido acético e dióxido de carbono que, da mesma forma, inibem a presença de micróbios e desencadeiam processos enzimáticos que contêm a proliferação de seres indesejados no alimento preservado. Outra finalidade humana ao conservar um alimento é usar o poder das bactérias, de transformar açúcar em álcool, para facilitar nossa digestão (FIDALGO, 2013).

Além de etanol e gás carbônico, vários subprodutos também são produzidos durante a fermentação, sendo o glicerol, o principal deles. A formação destes subprodutos, bem como o crescimento celular, inevitavelmente direciona alguns intermediários glicolíticos para as suas correspondentes rotas metabólicas, diminuindo o rendimento de produção do etanol (BAI, ANDERSON, MOO-YOUNG, 2008).

A fermentação alcoólica é, portanto, um processo biológico conduzido comumente por *Saccharomyces cerevisiae*, na forma unicelular com 2 a 8 micrômetros de diâmetro, cuja fisiologia e bioquímica tem sido negligenciada em favor de uma visão físico-química e mecânica do processo. Porém, trata-se de um organismo vivo, com múltiplas habilidades metabólicas, podendo alterar a estequiometria da fermentação em resposta a alterações do meio, com grande impacto no rendimento do processo (LIMA, BASSO, AMORIM, 2001). Estas se reproduzem basicamente por gemação (brotamento), em que a célula mãe, após um período de união entre os citoplasmas, dá origem a uma nova célula (STECKELBERG, 2001).

Estudos como, seleção de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* (PEREIRA et al., 2009), utilização de leveduras imobilizadas (NAVRÁTIL et al., 2001), avaliação do efeito da temperatura (GOMES, et al., 2013; IGLESIAS et al., 2014) e trabalhos para verificar o efeito da suplementação de nutrientes, tais como: influência da adição do pólen (ROLDÁN *et. al.*, 2011; KEMPKA, MATOVANI, 2013), suplementação de nitrogênio e adição de ácidos orgânicos (MENDES FERREIRA et al., 2010; GOMES et al., 2013; IGLESIAS et al., 2014), suplementação com sais e /ou vitaminas (PEREIRA et al., 2015), polpas de frutas (AMORIM et al., 2018; ANUNCIACÃO et al., 2017; MASCARENHAS et al., 2017), utilização de hidrocoloides naturais selecionados (SROKA, SATORA, 2017) na elaboração do hidromel têm sido desenvolvidos .

As leveduras usadas na produção de hidromel devem ser cepas utilizadas na produção de vinho ou cerveja, pois conferem aroma e sabor agradáveis à bebida. Há diversas cepas diferentes de leveduras enológicas, em sua maioria da espécie *Saccharomyces cerevisiae* (SCHULLER; CASAL, 2005). Entretanto, as leveduras para a produção de hidromel precisam apresentar uma certa habilidade de propagação em meios com elevada concentração de açúcares (PEREIRA et al., 2009).

O processo fermentativo mais comum é descontínuo e a temperatura indicada é de 18°C (GUPTA; SHARMA; 2009). De acordo com Sroka e Tuszynski (2007), a quantidade de levedura seca ativa para iniciar a fermentação não pode ser inferior a 0,5% m/v. Gupta e Sharma (2009) recomendam a concentração de 3 a 5 % m/v. Barone (1994) sugere a utilização de fermento seco na concentração entre 0,20 e 0,30 g L<sup>-1</sup>. Observa-se que as proporções de inóculo

recomendadas pelos diversos autores são altamente discrepantes; a diferença da maior quantidade de para a menor chega a 250 vezes.

Quanto maior o inóculo ( $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>), menor será o tempo de fermentação; entretanto, a clarificação do hidromel é prejudicada. Em contrapartida, estes autores afirmam que o uso de menor concentração de inóculo ( $10^5$  UFC mL<sup>-1</sup>) resultam em uma bebida com maior concentração de compostos que interferem benéficamente no perfil aromático, tais como álcoois superiores, ésteres, fenóis voláteis (PEREIRA et al., 2014).

O alto teor de açúcar no mosto pode interferir nessa etapa, pois a fermentação tende a ser mais lenta, podendo desencadear a refermentação do mosto por bactérias, que produzem ácido láctico e acético. Estes compostos podem elevar o teor de acidez e a produção de ésteres voláteis (CASELLAS, 2005). A presença dos ácidos láctico e acético modifica a qualidade organoléptica do hidromel, em particular o aroma e sabor, interferindo sua aceitabilidade.

Pereira (2008) e Mendes-Ferreira et al. (2010) avaliaram o desempenho fermentativo de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* na elaboração de hidromel. Os resultados não apontaram diferenças significativas no desempenho fermentativo das leveduras, sugerindo que a seleção de leveduras deve estar associada às características sensoriais do produto.

A temperatura é um fator relevante na etapa de fermentação, na Tabela 8 observa-se que para cada tipo de levedura, há uma temperatura ótima apropriada. Na elaboração de vinhos o uso de temperaturas mais baixas proporciona alto rendimento alcoólico e interferem na formação de ésteres responsáveis pelo aroma frutado. Para a levedura *S. cerevisiae*, as taxas mais elevadas de fermentação são obtidas em temperaturas entre 20 e 30°C, enquanto as temperaturas inferiores a 15 °C estão associadas às reduções significativas na sua velocidade. No entanto, é importante observar que a taxa de fermentação também diminui quando a temperatura é superior a 30 °C. A fim de otimizar a velocidade de fermentação e obter uma bebida com ótimas características químicas (concentração de etanol entre 11,5% e 12,3%, ácido acético 0,10-0,65 g L<sup>-1</sup>, glicerol 6,0 a 7,0 g L<sup>-1</sup>, glucose 2,5 a 3,5 g L<sup>-1</sup>, frutose 5,0 a 10,0 g L<sup>-1</sup>) (GOMES et al., 2013). A fermentação é dada por encerrada com a estabilização do teor de sólidos solúveis (°Brix) do fermentado.

### 3.3. UMBU

#### 3.3.1. Definição

O umbu, fruto do umbuzeiro membro do gênero *Spondias* parte da família Anarcadiaceae, é composto de quinze espécies, das quais o umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara) ocorre de forma espontânea no Nordeste, sendo que o umbuzeiro é endêmico do semiárido brasileiro (PIRES, 1990). É uma espécie de grande importância para o Bioma Caatinga, pois além de sobreviver sob as condições hostis do clima semiárido, consegue produzir uma grande quantidade de frutos que, são ricos em carboidratos, vitamina C (ácido ascórbico) e teores significativos das vitaminas A, B1 e sais minerais (MORS,1994).

#### 3.3.2. Aspectos Morfológicos

O fruto do umbuzeiro, conhecido como umbu, imbu ou até ambu, dependendo da região, são drupas sem pelos ou levemente pilosas, arredondadas, com diâmetro de 2 a 4 cm, 10 a 20 g de massa e superfície lisa ou rugosa (Figura 4). O endocarpo ou caroço, de tamanho variado de consistência denso-fibrosa, é muito resistente e contém a semente propriamente dita. Apresenta orifícios por onde penetra a água e saem o eixo embrionário e os cotilédones, por ocasião da germinação das sementes (MENDES, 1990).

**Figura 4.** Umbu (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara).



**Fonte:** Da autora (2019).

### 3.3.3. Composição

Os frutos são compostos, em média, por 22% de casca, 68% de polpa e 10% de caroço. Essas características podem variar de acordo com o estado de maturação do fruto. A casca pode assumir coloração amarelo esverdeado e a polpa é branca esverdeada, carnosa, apresenta sabor típico e acentuado gosto agridoce agradável, rico em proteína, cálcio, ferro, fósforo, vitaminas A, B, B<sub>1</sub> e ácido ascórbico (SILVA, 1987). Na Tabela 9 são apresentados a composição do umbu cru e polpa congelada de umbu.

**Tabela 9.** Composição de umbu cru e umbu polpa congelada por 100 gramas de parte comestível: Centesimal, mineral, vitaminas e colesterol.

Descrição da fruta	Umidade (%)	Energia (Kcal)	Lípidos (g)	Colesterol (mg)	Carboidratos (g)	Fibra Alimentar (g)	Cinzas (g)	Cálcio (mg)	Magnésio (mg)
Umbu, cru	89,3	37	NA	NA	9,4	2,0	0,5	12	11
Umbu, polpa, congelada	90,2	34	0,1	NA	8,8	1,3	0,4	11	8

**Fonte:** Adaptado de IBGE (2016).

### 3.3.4. Propriedades

#### Vitamina C

O umbuzeiro, cujos frutos e raiz são ricos em vitamina C ou ácido ascórbico, importante por sua ação antioxidante e como estimulante do sistema imunológico, entre outros benefícios para a saúde que ainda se encontra em fase de estudo (ANDRADE; DINIZ; NEVES, 2002). A vitamina C é facilmente degradável, os principais fatores que contribuem para sua oxidação são: meio alcalino, oxigênio, calor, ação da luz, metais (Fe, Cu, Zn) e a enzima ácido ascórbico oxidase (SGARBIERE, 1987; BRASIL e GUIMARÃES, 1998). O conteúdo de ácido ascórbico pode atingir teores superiores a 50 mg/100 g de polpa, (DANTAS JUNIOR, 2008).

#### Flavonoides

Os flavonoides estão amplamente distribuídos em praticamente todas as partes das plantas, particularmente em células fotossintéticas, e também presentes em bebidas como o vinho e a cerveja (PATHAK et al., 1991; YAO et al., 2004). Existe uma busca para o consumo de vegetais ricos nesses compostos, sendo este interesse influenciado pelas observações promissoras de seu potencial benéfico à saúde decorrente de sua ação antioxidante (WANG et al., 1997; ESPÍN et al., 2000).

O umbu pode ser considerado um fruto com elevado potencial antioxidante natural com atividade de proteção ou de inibição da oxidação de 87,74% quando comparado ao antioxidante sintético Trolox (GONDIM 2012). Além de 0,6 g de proteína; 30 mg de vitamina B1; 20 mg de cálcio; 14 mg de fósforo e 2 mg de ferro (ROSA VERMELHA, 2015).

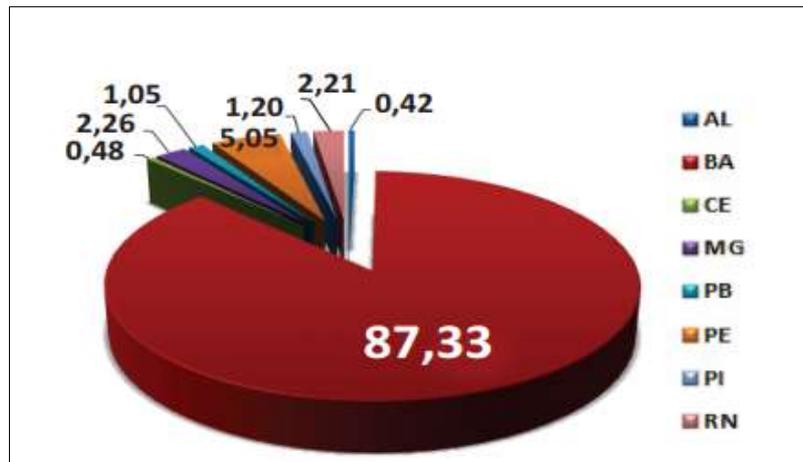
### 3.3.5. Produção de umbu no Brasil

Além de desempenhar papel nutricional, a comercialização dos frutos do umbuzeiro é a principal fonte de renda para a maioria dos pequenos agricultores durante a época de safra, que vai de dezembro a março. Durante esta etapa ocorre uma perda considerável de umbu maduro por ser um produto bastante perecível (SILVA et al., 1987). As altas produções alcançadas pelo umbuzeiro constituem-se numa fonte de renda e de absorção de mão-de-obra para muitas famílias rurais, que na época da safra, realizam a colheita dos frutos e são vendidos pelos pequenos agricultores para consumo ao natural ou na forma de polpa, suco, refrescos, doce, umbuzada, licor, sorvetes, xarope de umbu, pasta concentrada, umbuzeitona, batida e umbu cristalizado (COSTA et al., 2015).

Na Bahia, o gênero *Spondias* se destaca por apresentar frutíferas de grande importância e perfeitamente adaptadas às condições edafoclimáticas do Estado, principalmente na área de semiárido (PRADO & GIBBS, 1993). Destacam-se as espécies: *Spondias mombin* L. (cajazeira), *Spondias purpurea* L. (cirigueleira), *Spondias cytherea* Sonn. (cajaraneira), *Spondias tuberosa* Arr. Câm. (umbuzeiro) e *Spondias* sp. (umbu-cajazeira e umbugueleira), como árvores frutíferas tropicais que produzem frutos muito apreciados para o consumo como fruta fresca ou na forma processada (MARTINS, MELO, 2006). Além disso, apresenta importância social para muitas comunidades do Semiárido, se tornando a principal atividade econômica (BATISTA, 2015).

O maior produtor de umbu é o Brasil, com uma produção de 8,094 toneladas em 2015. Os estados brasileiros que têm as maiores produções são: Bahia com 87%, Pernambuco, 5,02%, Rio Grande do Norte, 3% e Minas Gerais, 1,7% (IBGE, 2016). Na Figura 5 é apresentada a produção de umbu por estado. Os frutos são muito apreciados na região Nordeste por apresentar como principal característica resistência à seca (DUTRA, 2017). O mercado para os frutos de *Spondias* produzidos no Nordeste vem se mostrando crescimento promissor, principalmente pelo aumento da demanda de fornecimento interno de polpas e sucos para consumo direto e na produção industrial de sorvetes e doces, e também o aumento de exportação de polpas congeladas para o continente Europeu (SANTOS et al., 1999).

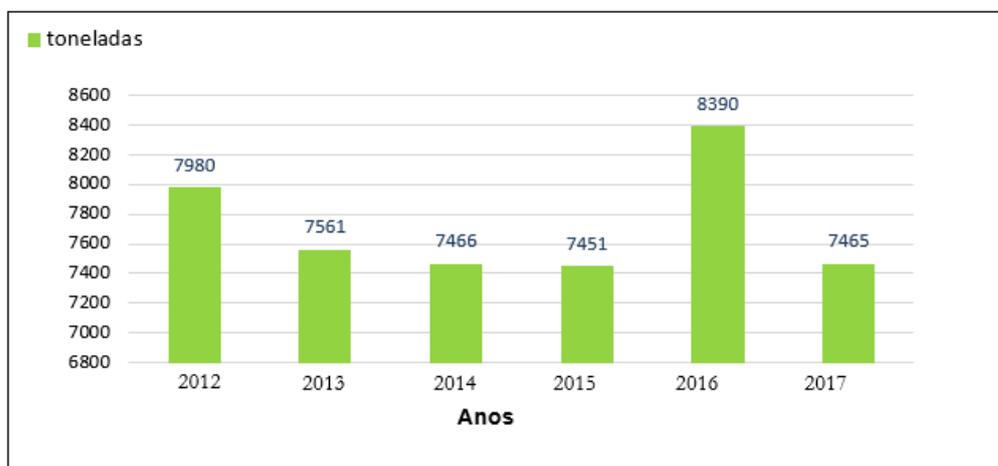
**Figura 5.** Porcentual de umbu produzido por estado do Semiárido Brasileiro (SAB), em 2013.



**Fonte:** IBGE (2016).

Apesar da importância econômica dessa espécie na produção de frutos, há carência de pesquisas visando à geração de tecnologias que permitam a exploração racional em cultivos comerciais, a começar pela seleção de matrizes produtivas cujos frutos possuem características desejáveis para consumo in natura e para indústria, embora ainda não sejam domesticadas e nem possuam sistema de produção, o umbuzeiro, a ciriguela e a cajazeira são as que apresentam maior potencial econômico (LEDERMAN et al., 2008). O umbuzeiro tem ganhado espaço, dentre outras espécies frutíferas com potencial de exploração, uma vez que seus frutos com sabor e aroma peculiares têm agradado ao mercado consumidor nacional e internacional (BATISTA, 2015). A evolução da produção de umbu é apresentada na Figura 6.

**Figura 6.** Produção de umbu no Brasil entre os anos 2012-2017.



**Fonte:** Elaboração própria.

### 3.3.6. Polpa comercial de umbu

O Brasil é o maior produtor mundial de frutas *in natura*, contudo, por serem perecíveis, grande parte dessas frutas sofre deterioração em poucos dias e, conseqüentemente, essa característica dificulta sua comercialização, especialmente a longas distâncias (MORAIS et al., 2010). O processamento pode ser usado como método de conservação que resulta na transformação do produto que aumentará a vida útil, agregando valor e dando origem a uma nova opção de produto aos consumidores, os quais cada vez mais estão voltados para uma maior ingestão de alimentos novos (SILVA et al. 2011).

A polpa de fruta é o produto obtido por esmagamento das partes comestíveis de frutas carnosas por processos tecnológicos adequados, deve ser preparada com frutas sãs, limpas, isentas de parasitos e de detritos animais ou vegetais. Não deve conter substâncias estranhas à sua composição normal, será tolerada a adição de sacarose na polpa em proporção a ser declarada no rótulo (BRASIL, 1978).

A polpa de umbu é o produto definido no art. 19 do Decreto n° 6.871/2009, obtido da parte comestível do umbu (*Spondias tuberosa* Arruda Camera), através de processo tecnológico adequado (MAPA, 2016). A polpa de umbu deve obedecer às características e composição seguidos na Tabela 10.

**Tabela 10.** Padrão de qualidade para polpa de umbu.

Parâmetro	Mínimo
Sólidos solúveis em °Brix a 20°C	9,00
Sólidos totais (g/100 g)	9,50
pH	2,40
Acidez total expressa em ácido cítrico (g/100 g)	1,40
Açúcares totais (g/100 g)	2,40
Ácido ascórbico (mg/100 g)	12,90

**Fonte:** Portaria n° 96 MAPA (2016).

Apesar da importância das fruteiras nativas, sobretudo do umbuzeiro e do seu elevado potencial socioeconômico, poucos estudos têm sido realizados visando aumentar a base de informações e ampliar suas possibilidades de uso. Os frutos do umbuzeiro apresentam apelo exótico para mercados de outras regiões do Brasil como sul e sudeste, e também para o mercado externo, o que de certa forma pode incentivar o aumento da produção. Ainda não devidamente caracterizado, particularmente no que se refere ao seu potencial agroindustrial, o umbu é uma fruta que demanda pesquisas, principalmente adequação de tecnologias convencionais e

desenvolvimento de novas, voltadas para o processamento, de forma a promover um aproveitamento mais rentável, mediante agregação de valor ao produto. (BATISTA, 2015).

Uma das principais vantagens do processamento é a agregação de valor ao produto, que se pode obter um valor de comércio até 20 vezes maior. Isso é possível devido ao beneficiamento ser feito na própria comunidade, o que reduz o percentual de perda de frutos com transporte e armazenamento, e também os custos de produção, uma vez que é utilizada a mão de obra das próprias famílias (COSTA, 2011). O rendimento médio em polpa industrializável gira em torno de 55 a 65 %, o que significa um bom potencial para a sua utilização na forma processada como polpa congelada, sucos, néctares e sorvetes (LIMA et al., 2002).

### **3.4. FEIJÃO CAUPI**

#### **3.4.1. Definição**

O feijão caupi (*Vigna unguiculata*), conhecido também como feijão massacar, feijão-de-corda, feijão da estrada, feijão-de-praia, feijão catador, feijão de rama ou feijão-fradinho, é uma leguminosa anual herbácea tolerante a altas temperaturas e à seca que produz frutos tipo vagem, podendo apresentar porte baixo e médio, é uma espécie originária do continente africano e amplamente cultivado em todo o Brasil (CRAVO et al., 2009; FREIRE FILHO et al., 2005; SINGH et al., 2002). O feijão caupi é caracterizado como planta Dicotyledonea, ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboide, tribo Phaseoleae, subtribo Phaseolina, gênero *Vigna*, subgênero *Vigna*, seção *Catiang*, espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp (CRAVO et al., 2009; PADULOSI; NG, 1997; QUIN, 1997).

#### **3.4.2. Composição Nutricional**

Entre as leguminosas, o feijão-caupi é uma excelente fonte alimentícia contendo bons níveis de energia apresentados na Tabela 11, proteínas (23-25%, em média), carboidratos (62%, em média), além de possuir grande quantidade de fibras dietéticas, baixa quantidade de lipídeos (2%, em média) e não conter colesterol (EMBRAPA MEIO NORTE, 2003).

**Tabela 11.** Composição centesimal (g. 100g<sup>-1</sup>) e valor energético (kcal. 100g<sup>-1</sup>) de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) em base seca.

Componentes	Feijão caupi
Umidade (%)	6,0±0,16
Cinzas (%)	2,6 ± 0,05
Proteínas (%)	24,5 ± 0,47
Lipídeos (%)	2,2 ± 0,02
Fibras totais (%)	19,4 ±1,07
Insolúveis (%)	16,6 ± 1,32
Solúveis (%)	2,7 ± 0,56
Carboidratos (%)	51,4 ± 0,63
Valor energético (kcal/100 g)	323,4 ± 0,84

**Fonte:** Frota et al. (2008).

O feijão caupi possui quantidades significativas de carboidratos, proteínas e fibras e baixos valores de lipídios (Tabela 11). A qualidade nutricional desses constituintes químicos pode variar de acordo com a manipulação genética, pelo gênero, espécie, variedade botânica, concentração de fatores antinutricionais, práticas agronômicas, manejo pós-colheita, tempo de estocagem, armazenamento, idade das sementes e tratamento no processo aplicado na preparação das sementes para o consumo humano (BRESSANI, 1993; CRUZ et al., 2003). Sendo um alimento básico para a população de baixa renda do Nordeste brasileiro.

O feijão caupi, como a maioria das sementes de leguminosas, requer tratamento térmico antes do seu consumo, a fim de inativar fatores antinutricionais como inibidores de amilases e lectinas e também melhorar a digestibilidade da proteína e a sua palatabilidade (MENCION; VAN DER POEL, 1993; LIENER, 1994; LALLES; JANSMAN, 1998; CARBONARO et al., 2000).

No Agreste e no Sertão Nordestino, o feijão-caupi se destaca entre as leguminosas tradicionalmente mais consumidas, na forma madura ou seca (quiescente) e verde (imatura), constituindo-se, em termos quantitativos, numa fonte de proteína assim como de outros constituintes importantes para dieta (Tabela 11).

Na Tabela 12 se apresenta a composição centesimal do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) e de importantes grãos de leguminosas.

**Tabela 12.** Composição centesimal de importantes grãos de leguminosas.

Nutrientes (g/100 g)	Grao-de-bico	Caupi	Lentilha	Ervilha
Umidade	7,3	9,4	9,3	7,8
Proteína bruta	24,0	24,7	26,1	24,9
Gordura	5,2	4,8	3,2	1,5
Cinzas	3,6	4,2	2,8	3,6

**Fonte:** Adaptado de Farzana e Khalil (1999).

### 3.4.3. Produção no Brasil

No Brasil, o feijão caupi é cultivado predominantemente no sertão semi-árido da região Nordeste e em pequenas áreas na Amazônia (MAIA, 1996). Apresenta destacável valor socioeconômico para a essa região, o mercado consumidor de fradinho, está estimado em 29 milhões de pessoas. Esta região é responsável por 1.205.839 ha (94,40%) da área e 412.458 t (87,73%) da produção total de feijão-caupi no Brasil, sendo a produtividade média de grãos de aproximadamente 342 kg.ha<sup>-1</sup> (DAMASCENO, SILVA, 2007). Os maiores produtores são os Estados do Ceará, Piauí, Bahia e Maranhão, os quais também apresentam as maiores áreas plantadas (IBGE, 2001). A produção dos grãos, secos ou verdes, é destinada principalmente para o consumo humano in natura, na forma de conserva ou desidratado (EMBRAPA MEIO NORTE, 2003).

No período de 2006 a 2011, Brasil, Índia e Birmânia revezaram-se nos três primeiros lugares entre os maiores produtores mundiais, totalizando aproximadamente 61% da produção mundial (EMBRAPA, 2013). Segundo dados anuais disponibilizadas pela Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2014), na safra de 2013/2014 o feijão esteve entre as principais culturas no Brasil, destacando-se com produtividade média nacional estimada em 14,1% acima da safra passada, totalizando 1.042 kg ha<sup>-1</sup>.

Dentre os diferentes produtos agrícolas, o caupi se destaca pelo alto valor nutritivo, além do baixo custo de produção, alto significado social na composição da agricultura brasileira, sendo amplamente disseminado em todo o país, exercendo efetiva participação dos pequenos produtores, constituindo uma das principais culturas alimentares desta região, em todas as classes sociais no Brasil (EMBRAPA MEIO NORTE, 2003; RAMOS, MAGALHÃES, CALDAS, 2006).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Fermentação do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual Feira de Santana (UEFS).

### 4.1. MATERIAS PRIMAS

#### 4.1.1. Obtenção

O mel floral foi obtido da Cooperativa de Apicultores do município de Tucano (COOAPIT) Bahia, Brasil. A polpa comercial de umbu e o feijão-caupi foram adquiridos no comércio local do município de Feira de Santana- BA.

#### 4.1.2. Caracterização físico-química

As amostras foram analisadas no Laboratório de Fermentação do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual Feira de Santana – UEFS, os processos abaixo mencionados para as análises, estão de acordo com recomendações e metodologias disponibilizadas pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008 e para a realização da caracterização da polpa de frutas BRASIL, 2008.

#### Açúcares redutores

A determinação de açúcares redutores pelo método de Somogyi-Nelson segundo Nelson (1944) é baseada nas propriedades redutoras dos açúcares, pela redução do cobre, seguida da formação de um complexo cobre-molibdato de arsênio quantificado colorimetricamente. Foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro Femto 600 plus em 540 nm. Os resultados foram expressos em percentagem (m/v).

#### Proteínas Totais

A determinação de proteína pelo método de Kjeldahl consistiu de três etapas: digestão, destilação e titulação. 1g de cada amostra de polpa de umbu, nas três condições analisadas foram pesadas em papel manteiga e transferidas para os balões de Kjeldahl. A essas amostras foram adicionado 25 mL de ácido sulfúrico e 6g de catalisador, a mistura foi aquecida até a formar um sal. Em seguida as amostras foram destiladas com hidróxido de sódio, havendo a liberação de amônia. Por fim determinou-se a quantidade de nitrogênio presentes nas amostras de polpa por titulação.

### Umidade

Esta análise foi realizada em triplicata com amostras de 5g pesadas em cadinhos para logo ser colocadas na estufa por 6 horas a uma pressão reduzida e a temperatura de 70°C, logo após foram resfriadas para ser pesadas, por perda de massa se obteve o valor da umidade.

### Cinzas

O teor de cinzas foi realizado em triplicata, foi obtido através da incineração em mufla de 5g de amostra, que foram colocadas em cadinhos de porcelana, estes foram previamente aquecidos em mufla a 550°C por uma hora e transferidos para dissecador até atingirem temperatura ambiente, logo em seguida foram pesados. As cinzas obtidas no processo foram pesadas em repetidas vezes até que o peso se manteve-se constante.

### Acidez total titulável

A determinação de acidez pode fornecer um dado valioso na apreciação do estado de conservação de um produto alimentício. Um processo de decomposição seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a concentração dos íons de hidrogênio. A acidez total foi obtida pela técnica de acidez titulável com soluções de álcali padrão, com hidróxido de sódio 1 M e utilizando a fenolftaleína como indicador conforme estabelecido pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), podendo ser expressa em mL de solução molar por cento ou em gramas do componente ácido principal.

### Vitamina C

A vitamina C foi analisada através do método com iodato de potássio. Titulou-se com solução de iodato de potássio 0,02 M até coloração azul. Os resultados foram expressos em (mg/100 g).

### Sólidos insolúveis

Esta análise mede o grau de pureza do mel, onde o teor de sólidos insolúveis em mel representa a presença de substâncias insolúveis em água, como cera e grãos de pólen, que segundo a legislação brasileira e internacional não pode ser superior a 0,1g/100g, exceto no mel prensado que se tolera até 0,5 g/100 g, unicamente em produtos acondicionados para sua venda direta ao público. A IN nº11/00 (MAPA) recomenda a determinação do teor de sólidos insolúveis por gravimetria, com filtração em cadinho poroso (BRASIL, 2000).

### Determinação de pH

O pH foi determinado pelo método potenciométrico utilizando-se um pHmetro e bancada (Gehaka pg 1800) com calibração a 98% feita em solução tampão de pH 4,0 e 7,0, a 25°C.

#### Sólidos Solúveis Totais (°Brix)

O refratômetro é o aparelho utilizado para a leitura, deve ser sempre ajustado, a leitura direta dos graus brix indicam a quantidade de sólidos solúveis existentes na amostra. A leitura do mel e da polpa comercial de umbu foi realizada através do refratômetro portátil digital Reichert tecnal AR-200, colocando aproximadamente 2 gotas de amostra no local indicado para a leitura.

## 4.2. SELEÇÃO E AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DAS LEVEDURAS

### 4.2.1. Avaliação da produção de sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S)

Foram testadas duas cepas de *S. bayannus* Cotê des Blancs Red Star<sup>®</sup>, Premier Blanc Red Star<sup>®</sup> indicadas para a elaboração de hidromel e vinho e uma cepa de *S. cerevisiae* Safbrew Abbaye Fermentis<sup>®</sup> indicada para a elaboração de cerveja, essas três cepas avaliadas quanto à produção de sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S) através do teste proposto por Ono et al. (1991), em meio sólido em placas de Petri, composto por peptona (0,3%), extrato de levedura (0,5%), glicose (4%), sulfato de amônio (0,02%), acetato de chumbo (0,1%) e ágar (2%); as placas foram autoclavadas a 121°C por 15 min. Inicialmente as leveduras comerciais foram pré-ativadas em 300 mL de meio YM, contendo peptona (1%), extrato de levedura (0,5%), extrato de malte (0,5%) e glicose (2%), incubadas em agitador rotatório (Tecnal TE-420), por 48 h, rotação de 150 rpm e temperatura igual a 30°C, conforme Guimarães (2005). Após isso, as leveduras foram propagadas no meio YM semeadas, por estrias simples, nas placas e incubadas por 240 horas a 25°C em estufa do tipo incubadora para BOD, Quimis<sup>®</sup>, modelo Q315M25, e, ao final do período de incubação, foi verificada as intensidades das cores das colônias de levedura presentes no meio sólido contido nas placas de Petri.

Posteriormente foram observadas o aparecimento de colônias enegrecidas (Figura 7), característica.

**Figura 7.** Leveduras comerciais utilizadas no teste de produção de sulfeto de hidrogênio, Cotê des Blancs (A), e Safbrew Abbaye (B) Premie Blanc (C).



**Fonte:** Da autora.

### 4.3. PREPARO E TRATAMENTO DO MOSTO DE MEL PARA A PRODUÇÃO DE HIDROMEL

#### 4.3.1. Preparo do inóculo

A levedura selecionada foi pesada de acordo com as instruções do fabricante, propagadas em frascos de Erlenmeyer previamente esterilizados contendo mosto de mel com concentração de 30 °Brix, pela mistura com água esterilizada, e agitadas em shaker (Tecnal TE-420) nas condições de 30°C/ 150 rpm, 24 h a fim de obter uma concentração celular igual ou próxima de 10<sup>7</sup> células/mL.

#### 4.3.2. Preparo do extrato de feijão caupi

O feijão caupi foi liquidificado com água destilada para uma concentração de 150 g.L<sup>-1</sup> logo autoclavada a 121°C, por 30 minutos. A mistura obtida autoclavada foi centrifugado (centrífuga Excelsa Baby I FANEM), a uma rotação de 3500 rpm, por 10 minutos e, após isso, o sobrenadante obtido foi armazenado em frascos plásticos estéreis e aquecido em banho-Maria (75°C, 15 min) com o intuito de eliminar bactérias provenientes de uma eventual contaminação ambiental durante o processo de centrifugação. Após esse processo, os frascos contendo o extrato de feijão caupi foram armazenados sob congelamento (-18°C) para a sua utilização como suplemento na produção de hidromel.

#### 4.3.3. Preparo e Tratamento do mosto de mel

As fermentações foram realizadas em frascos de 500 mL contendo mosto (água:mel) o mel foi diluído para 15, 25 e 35 °Brix com água destilada suplementada com sulfato de amônio (1g/L), cloreto de magnésio (0,1g/L); posteriormente foram adicionadas a polpa comercial de umbu nas concentrações (10, 20 e 30 %) e extrato de feijão caupi nas concentrações de (10, 20 e 30 g/L) apresentado na Figura 8. O pH foi ajustado para 4,5 utilizando carbonato de cálcio. Adicionaram-se em seguida 25 mL do inóculo, correspondente a 10% do volume total do meio fermentativo (250 mL). Em cada frasco Erlenmeyer, acoplou-se a válvula airlock preenchido com álcool etílico 70%, utilizada para libertar o CO<sub>2</sub> produzido a partir da fermentação e evitando a contaminação microbiológica e trocas gasosas permitindo assim que a levedura cresça sob condições anaeróbias. Logo os frascos foram colocados em estufa BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio) Quimis®, modelo Q315M25 a 30°C até o teor de sólidos solúveis (°Brix) permanecer constante.

**Figura 8.** Mostos de 35 e 15°Brix contendo concentrações de polpa de umbu (10 e 30) % e extrato de feijão caupi nas concentrações de (10 e 30) g/L.



**Fonte:** Da autora.

Os ensaios fermentativos foram realizados a partir de um planejamento fatorial 2<sup>3</sup>, com triplicata no ponto central para avaliar o efeito de três variáveis independentes seguintes:

1. Concentração do mosto água mel ou teor de sólidos solúveis (TSST) iguais a 15, 25 e 35 °Brix;
2. Concentração de polpa de umbu (CPU) iguais a 10, 20 e 30%;
3. Concentração de extrato de feijão (CEF) iguais a 10, 20 e 30 g/L

As condições de cada ensaio com as variáveis reais e codificadas estão apresentadas nas Tabelas 13 e 14, respectivamente.

**Tabela 13.** Matriz de planejamento fatorial  $2^3$  com três repetições no ponto central.

Nº de Ensaio	TSST (°Brix)	CPU (%)	CEF (%)
1	+1	+1	+1
2	+1	+1	-1
3	+1	-1	+1
4	+1	-1	-1
5	-1	+1	+1
6	-1	+1	-1
7	-1	-1	+1
8	-1	-1	-1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0
12	+1	0	0
13	-1	0	0
14	0	+1	0
15	0	-1	0
16	0	0	+1
17	0	0	-1

Onde: TSST (°Brix) é o teor de sólidos solúveis; CPU (%) é a concentração de polpa de umbu e CEF (%) é a concentração de extrato de feijão.

**Tabela 14.** Valores reais dos níveis codificados para o teor de sólidos solúveis (TSST), a concentração de polpa de umbu (CPU) e a concentração de extrato de feijão (CEF) utilizados no planejamento fatorial.

Fatores	Níveis		
	-1 (inferior)	0 (central)	+1 (superior)
TSST (°Brix)	15	25	35
CPU (%)	10	20	30
CEF (g/L)	10	20	30

#### 4.3.4. Acompanhamento das fermentações

A cada 24 h, para o acompanhamento dos parâmetros fermentativos em cada ensaio realizado, foram realizadas coletas (1,5 mL) de amostras para determinar a concentração celular ( $\text{células.mL}^{-1}$ ) a partir de contagem realizada em câmara de Neubauer ( $1/400 \text{ mm}^2 \times 1/10 \text{ mm}$ ), para determinação das células viáveis e não viáveis, utilizou-se o Método Internacional de Coloração, utilizando azul de metileno segundo ASBC (1996) e concentração de sólidos solúveis (°Brix) determinada a partir de um refratômetro digital portátil (Reichert Tecnal AR-200, Piracicaba, SP, Brazil) e a amostra sobranse foram armazenadas em tubos Eppendorf, e congeladas ( $-18^\circ\text{C}$ ) para posteriores análises por cromatografia líquida de alta

eficiência, HPLC (Waters 2414, USA), utilizando uma coluna BIORAD AMINEX HPX-87H (300 × 7.8), detector de índice de refração RID 6A, tendo como eluente ácido sulfúrico (0.005 M) num fluxo médio de 0,6 mL.min<sup>-1</sup>, a 45°C. de açúcares (glicose, frutose e sacarose), álcoois (etanol e glicerol) (DE MELO et al., 2017).

A concentração de etanol (g/L) e de extrato aparente (g/L) foram obtidas a partir das Equações 1 e 2, respectivamente.

$$\text{Etanol (g/L)} = \text{Etanol (\% v/v)} \times 0,789 \times \rho \quad (\text{Equação 1})$$

$$\text{Extrato aparente(g/L)} = \text{extrato aparente(}^{\circ}\text{P)} \times \rho \times 10 \quad (\text{Equação 2})$$

Onde: 0,789 g/cm<sup>3</sup> é a densidade absoluta do etanol a 20°C e  $\rho$  é a densidade absoluta do mosto (g/mL).

#### 4.3.5 Análises dos resultados do planejamento fatorial

O delineamento experimental para avaliar a influência do TSST, da CPU e da CEF sobre as respostas Fator de conversão de substrato em produto ( $Y_{p/s}$ ), produtividade volumétrica em etanol ( $Q_p$ ) e eficiência da fermentação ( $\eta$ ). A análise estatística dos dados foi efetuada empregando-se o programa STATISTIC versão 7.0. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e à metodologia de superfície de resposta.

Os valores das variáveis no planejamento foram codificados de acordo com a equação:

$$Z = (N - \mu) / (N_2 - N_1) / 2$$

Onde: Z: Valor codificado da variável; N: Valor real da variável;  $\mu$ : média dos valores reais das variáveis;  $N_1$  e  $N_2$ : são os valores reais mínimo e máximo.

#### 4.3.6 Determinação dos Parâmetros Fermentativos

##### 4.3.6.1. Fator de conversão de substrato em produto

O fator de rendimento da fermentação alcoólica foi a partir da equação (3)

$$Y_{p/s} (\text{g/g}) = \frac{P - P_0}{S_0 - S} \quad \text{Equação 3}$$

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).

#### 4.3.6.2. Produtividade Volumétrica em etanol

A produtividade em etanol foi calculada conforme a equação (4)

$$Q_p \left( \frac{g}{L.h} \right) = \frac{P - P_0}{t - t_0} \quad \text{Equação 4}$$

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).

#### 4.3.6.3. Eficiência da Fermentação

A eficiência de fermentação foi calculada com base no rendimento teórico proveniente da equação de Gay-Lusac e de acordo com a equação (5).

$$\eta(\%) = \frac{Y_{p/s} \text{ obtido}}{Y_{p/s} \text{ teórico}} \times 100 \quad \text{Equação 5}$$

Onde:  $Y_{p/s} \text{ teórico}$ : 0,511 g/g.

#### 4.3.7. Cinética da fermentação

Para o processo da cinética da fermentação, foram determinados os pesos secos das massas de leveduras contidas nas amostras de mosto de mel, coletados durante os períodos de fermentação, que foram armazenadas em tubos Eppendorf. As amostras foram previamente tratadas com celulase comercial Viscozyme L, da Novozymes<sup>®</sup>, numa concentração de 0,5%, para a hidrólise das fibras insolúveis oriundas dos ingredientes componentes dos mostos de mel.

Conforme Hamelink (2005), foi realizado o experimento por 36 h e, após isso, essas mesmas amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm, por 10 minutos, numa centrífuga refrigerada (Eppendorf<sup>®</sup> 5810 R). Após o processo de centrifugação, os conteúdos sobrenadantes dos tubos foram separados das massas celulares sólidas e, sendo assim, foi determinado o peso seco das leveduras oriundas das amostras de mosto de mel em fermentação, por secagem em estufa a vácuo (Quimis<sup>®</sup>, DZF-6030), a 70°C.

As concentrações mássicas celulares encontradas ( $\text{g.L}^{-1}$ ), obtidas pela divisão de cada massa encontrada de leveduras (g) pelo volume de mosto contido no Eppendorf (L), juntamente com as velocidades instantâneas de crescimento celular ( $dX/dt$ ), consumo de substrato ( $dS/dt$ ) e produção de etanol ( $dP/dt$ ), calculadas de acordo com o método proposto por Le Duy e Zajic (1973), foram utilizadas para a determinação das velocidades específicas de crescimento celular ( $\mu_X$ ), consumo de substrato ( $\mu_S$ ) e produção de etanol ( $\mu_P$ ).

A velocidade específica de crescimento celular ( $\mu_X$ ), definida conforme Equação (6):

$$\mu_X = (1/X) \times dX/dt \quad \text{Equação 6}$$

Onde: X: Concentração celular e  $dX/dt$  : Derivada da concentração celular em relação ao tempo.

A velocidade específica de consumo de substrato ( $\mu_S$ ), definida conforme Equação (7).

$$\mu_S = (1/X) \times dS/dt \quad \text{Equação 7}$$

Onde: S: Representa o tipo de carboidrato analisado (glicose, frutose esacarose) e  $dS/dt$  : derivada do consumo de substrato em relação ao tempo.

A velocidade específica de formação de produto ( $\mu_P$ ) foi definida conforme Equação (8).

$$\mu_P = (1/X) \times dP/dt \quad \text{Equação 8}$$

Onde: P: Representa o produto formado (etanol) e  $dP/dt$ : Derivada da produção de etanol em relação ao tempo.

As derivadas  $dX/dt$ ,  $dS/dt$  e  $dP/dt$  foram calculadas de acordo com o método proposto por Le Duy e Zajic (1973).

#### 4.3.8. Escala laboratorial ampliada

Para a produção de hidromel em escala piloto foi utilizando um sistema composto por num recipiente plástico com capacidade para 7 L , lavado, sanitizado e equipado com uma válvula airlock para a realização do processo fermentativo em escala piloto com 5 L de mosto de 35 °Brix, 30% de polpa de umbu e 20 g/L de extrato de feijão por *S. bayanus*. Durante a o período de fermentação, foram coletadas amostras de 1,5 mL em tubos Eppendorfs a cada 24

horas, utilizando um sistema com seringa semelhante ao realizado em escala laboratorial (250 mL) para avaliação de concentração de sólidos solúveis num Refratômetro portátil digital (Reichert Tecnal AR-200), contagem e viabilidade celular utilizando azul de metileno numa câmara Neubauer em microscópio BEL Photonics, e determinação da concentração de etanol em densímetro DDM 2911 de Rudolph Analytical Research (DE MELO et al., 2017).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS MATÉRIAS-PRIMAS

As características físico-químicas do mel floral obtido da Cooperativa de Apicultores do município de Tucano (COOAPIT), Feira de Santana- BA e outros méis reportados na literatura, assim como os valores de referência estabelecidos pela Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000, do MAPA, são apresentados na Tabela 15.

**Tabela 15.** Características físico-químicas do mel floral e valores reportados na literatura para outros méis.

Parâmetros	Resultados	Brasil (2000)	Mileski (2016)	Pereira (2008)	Brunelli (2015)
Sólidos solúveis (°Brix)	80,2 ± 0,23	NA	81,53 ± 0,23	---	80,10 ± 0,02
Umidade (%)	18,73 ± 0,21	< 20	18,40 ± 0,20	16,80	16,10 ± 0,11
Cinzas (%)	0,25 ± 0,02	< 0,6	0,22 ± 0,01	0,55	---
Açúcares redutores (%)	76,36 ± 0,01	> 65	74,63 ± 0,01	71,43	70,86 ± 0,21
Açúcares totais (%)	81,30 ± 0,12	NA	---	---	77,50 ± 0,13
Acidez total (meq./Kg)	24,4 ± 1,5	< 50	---	---	16,21 ± 0,25
Sólidos insolúveis (%)	0,02 ± 0,03	NA	0,03 ± 0,01	4,90	---
pH	3,50 ± 0,01	NA	4,44 ± 0,01	---	4,49 ± 0,02

Os valores são médias dos resultados em triplicata, acompanhado do seu respectivo desvio padrão. O padrão de qualidade refere-se a IN MAPA nº 11/2000 (BRASIL, 2000), que determina os limites mínimos ou máximos para cada parâmetro. Sendo NA, não se aplica.

Fonte: Da autora

Os resultados demonstram que o mel apresentou padrão de qualidade e obedece aos limites estabelecidos pela Instrução Normativa nº 11 de 20 de outubro 2000 emitida pelo Ministério da Agricultura (Brasil, 2000).

O mel florada silvestre da COOAPIT tem um teor de sólidos solúveis similar aos repostados para outros méis (80,2 ± 0,23).

O conteúdo de água do mel pode variar de 15% a 21%, sendo normalmente encontrados níveis de 17% (MENDES; COELHO, 1983). A legislação brasileira estabelece um teor de umidade máximo de 20 % para méis florais ou de melato (BRASIL, 2000). O mel com um conteúdo de água excessivo pode apresentar dificuldades na preservação e armazenamento.

Segundo Crane (1987), a maior possibilidade de fermentação do mel está ligada ao maior teor de umidade e leveduras. O valor obtido de umidade do mel utilizado  $18,30 \pm 0,21$  observa-se próximo aos resultados reportados por outros autores.

O teor de cinzas (0,25%) do mel é menor que o limite estabelecido pela legislação brasileira.

A norma nacional estabelece um mínimo de 65 % para o conteúdo de açúcares redutores e o Codex Alimentarius 60,0%, sendo que o mel analisado deu  $76,36 \pm 0,01$  encontrando-se dentro dos parâmetros exigidos na legislação para o mel. A concentração de açúcares totais é menor ao valor reportado por Brunelli (2015).

Os ácidos orgânicos são os responsáveis pela acidez do mel e contribuem consideravelmente para o seu sabor característico (ANKLAM, 1998). Os valores da acidez, indicam a ausência de fermentações indesejáveis (FINOLA et al., 2007), pois a presença de leveduras xerotolerantes pode ser responsável pelo aumento da sua acidez (DE RODRÍGUEZ et al., 2004). O valor da acidez no mel avaliado foi 2,03 meq/kg abaixo do limite máximo estabelecido, 50 meq/Kg de mel, estando em conformidade com as normas nacionais e internacionais para méis de Apis. O valor de pH obtido foi de  $3,50 \pm 0,01$ ; os valores de pH não estão padronizados pela legislação nacional e internacional, entretanto o pH do mel avaliado foi inferior ao encontrado por Mileski, 2016 ( $4,44 \pm 0,01$ ) e este foi próximo do obtido por Brunelli, 2015 ( $4,49 \pm 0,02$ ). A maioria dos parâmetros físico-químicos obtidos nas amostras do mel estudado apresentou valores adequados com a legislação por tanto viáveis para o consumo humano, o que possibilita a exploração desse produto para desenvolvimento de novos produtos.

A polpa de umbu é um produto definido no art. 19 do Decreto nº 6.871/2009, obtido da parte comestível do umbu (*Spondias tuberosa* Arruda Camara), através de processo tecnológico adequado. A polpa de umbu deve obedecer às características e composição segundo MAPA (2016).

A Tabela 16 apresenta as características físico-químicas da polpa comercial de umbu comparada com os valores estabelecidos pela Portaria nº 94, de 30 de agosto de 2016, do MAPA e com os resultados reportados por outros autores.

**Tabela 16.** Características físico-químicas da polpa comercial de umbu e valores reportados na literatura.

Parâmetros	Resultados	MAPA (2016)	Bastos et al. (2016)	Mattietto (2005)	Bispo (1989)
Umidade (%)	89,89 ± 0,02	< 90,20	---	89,40	89,89
Cinzas (%)	0,26 ± 0,02	< 0,40	0,37	0,40	0,33
Sólidos solúveis (°Brix)	8,00 ± 0,00	> 9,00	8,50	9,59	10,00
Proteínas (%)	0,68 ± 0,01	> 0,50	0,68	0,75	0,52
Açúcares redutores (%)	4,92 ± 0,01	---	4,96	3,63	6,07
Açúcares totais (%)	8,54 ± 0,12	> 2,40	8,52	4,93	7,95
pH	2,40 ± 0,01	> 2,40	2,42	2,75	2,45
Acidez (ac. cítrico/100 g)	1,88 ± 0,31	> 1,40	1,88	1,39	1,23

**Fonte:** Da autora

A polpa de umbu comercial teve os valores de umidade e cinzas iguais a  $89,89 \pm 0,02\%$  e  $0,26 \pm 0,02\%$ , respectivamente que estão dentro dos estabelecido pelo MAPA (2016) que indica valores máximos de 90,20% e 0,40%, respectivamente. Os valores de umidade são similares aos reportados na literatura e o teor de cinzas na polpa foi menor que o reportado anteriormente na literatura. O teor de cinzas depende o tipo de solo e da composição do mesmo (KHAN et al., 2014).

A polpa comercial de umbu teve um teor de sólidos solúveis de  $8,00 \pm 0,00$  °Brix inferior ao estabelecido pelo MAPA (2016) que deve ser como mínimo igual a 9,00 °Brix. Maiores valores de teor de sólidos solúveis (9,59 até 10 °Brix) foram reportados por Mattietto (2005 e Bispo (1989). Resultado similar foi reportado por Bastos et al. (2016). O menor valor de sólidos solúveis na polpa comercial poderia estar relacionado com a adição eventual de água e pelo uso de aditivos e conservantes durante o processamento da polpa industrial para garantir maior tempo de vida de prateleira assim como devido a diferentes regiões, pontos de colheita e graus de maturação das frutas (BRASIL, 2010).

O umbu não é um fruto rico em proteínas, portanto os resultados obtidos foram os esperados  $0,68 \pm 0,01\%$ . Batista et al. (2016) apresentou o mesmo resultado para esta análise  $0,68\%$ . Os demais autores apresentaram resultados próximos para este parâmetro.

Na análise de açúcares redutores e totais, não houve grandes diferenças entre o resultado encontrado neste trabalho ( $4,92 \pm 0,01\%$ ) ( $8,54 \pm 0,12$ ) e o valor reportado por Bastos et al. (2016) que foi de ( $4,96\%$ ) ( $8,52$ ), mas sim com os reportados por Mattietto (2005) que foi ( $3,63$  e  $4,93$ ) e para Bispo (1989) ( $6,97$  e  $7,95$ ) respectivamente. As diferenças podem ser devido ao grau de maturidade dos frutos coletados para o preparo da polpa comercial e dos frutos utilizados nos estudos de referência. Um elevado grau de maturidade resulta no aumento dos teores de açúcares porque as carboidrases presentes nos frutos vão degradando os

polissacarídeos, convertendo-os em monossacarídeos e dissacarídeos, entre outros (CHITARRA, CHITARRA, 2005).

Os valores de pH e acidez na literatura se assemelham aos valores  $2,40 \pm 0,01$  % e  $1,88 \pm 0,31$  ácido cítrico/100 g encontrados, respectivamente.

O teor de vitamina C, expresso em ácido ascórbico, encontrado está coerente com a referência acima citada que vai de  $5,40 \pm 0,01$ -  $9,61$  (mg ácido ascórbico/100 g) a exceção de Mattietto (2005) que indicou um valor médio de  $23,83$ mg/100g, polpa obtida de Cruz das Almas-BA em estágio de maturação (“de vez”) adequado para consumo e processamento. As diferenças podem ser atribuídas à degradação mais intensa da vitamina, o período de estocagem, o contato com o oxigênio atmosférico ou com a ação da luz (OYETADE et al., 2012). O fato dos frutos da polpa comercial ter naturalmente menor concentração de vitamina C de que os frutos utilizados nos estudos reportados na literatura, assim como ao método de extração aplicados para obter a polpa poderiam afetar diretamente a qualidade das polpas obtidas, por melhor que seja o método aplicado, perdas em nutrientes vão ser observadas, especialmente de vitaminas (SGARBIERI, 1987).

Na Tabela 17 são apresentados os valores de proteínas, lipídios, açúcares totais e redutores do extrato de feijão-caupi utilizado como suplemento neste trabalho comparado com os grãos dessa leguminosa reportados por outros autores.

**Tabela 17.** Comparação dos parâmetros químicos do extrato de feijão-caupi, produzido e caracterizado no presente trabalho, com os reportados na literatura.

Parâmetros	Resultados	Castellón et al. (2003)	Frota, Soares e Arêas (2008)	Souza-Silva et al. (2002)
Proteínas (% m/m)	$0,53 \pm 0,02$	21,6 – 24,7	24,5	20,29 – 27,39
Lipídios (% m/m)	$0,28 \pm 0,03$	1,2 – 1,7	2,2	0,53 – 3,08
Açúcares redutores (% m/m)	$0,88 \pm 0,12$	---	---	---
Açúcares totais (% m/m)	$5,33 \pm 0,15$	71,4 – 74,5	51,4	26,10 – 74,54
Sólidos solúveis (°Brix)	$3,00 \pm 0,02$	---	---	---

Fonte: Da autora.

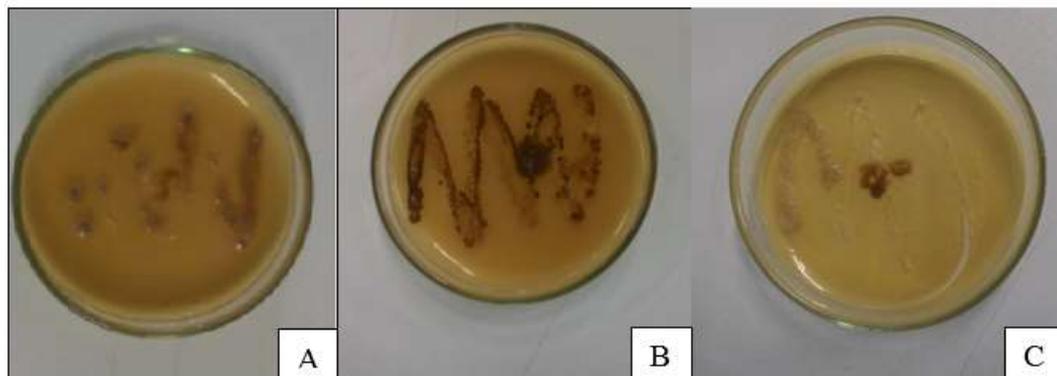
Os valores dos parâmetros físico-químicos do extrato de feijão-caupi indicam que é uma boa fonte de proteínas, lipídios e açúcares para ser utilizado na suplementação do mosto de mel. O conteúdo proteico do referido extrato foi equivalente a 1,9 - 2,6% dos valores reportados para os grãos desta leguminosa nos trabalhos citados. O feijão-caupi foi utilizado numa concentração de  $150 \text{ g.L}^{-1}$  (ou seja, 15% m/v), então, pode-se constatar que durante o preparo

do extrato desta leguminosa, grande parte do conteúdo proteico fica retido na porção sólida após o processo de centrifugação.

## 5.2. AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE SULFETO DE HIDROGÊNIO

A produção de  $H_2S$  pelas leveduras avaliadas foi observada pela mudança na intensidade da cor das colônias, gerando uma pigmentação escurecida nas colônias propagadas no meio sólido, onde a tendência é ficar mais escura em resposta à maior produção de  $H_2S$  e à conseqüentemente formação do sulfato de chumbo (ONO et al., 1991). Na Figura 9 apresenta-se as diferenças na produção de sulfeto de hidrogênio nos cultivos de duas cepas de *S. cerevisiae* e uma cepa de *S. bayanus*.

**Figura 9.** Colônias de cepas de leveduras comerciais cultivadas em meio sólido para avaliação da produção de sulfeto de hidrogênio. Cotê des Blancs (A), Safbrew Abbaye (B) e Premier Blanc (C).



**Fonte:** Da autora.

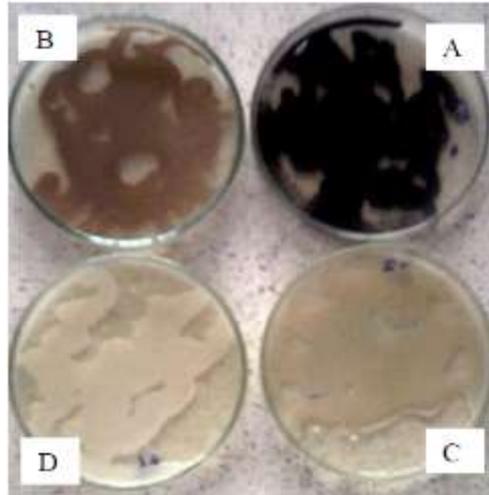
A produção de sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ) no processo da fabricação de bebidas alcoólicas é influenciada pela concentração de nitrogênio no mosto. A baixa concentração desse nutriente está ligada à degradação de proteínas e peptídeos com a presença de enxofre em sua composição para que esse nitrogênio seja obtido, gerando o  $H_2S$  como resultado dessa atividade proteolítica (FLEET, 1993).

Guimarães (2005) realizou o teste para selecionar cepas de leveduras comerciais para a produção de vinho, considerando a formação de  $H_2S$ . Então, realizou a classificação como cepas de alta, média e baixa produção de  $H_2S$ .

Observa-se que nenhuma das cepas testadas apresentou coloração que pudesse classificá-las como superprodutoras de sulfeto de hidrogênio, sendo que a colônia de *S. cerevisiae* Safbrew Abbaye apresentou coloração mais escura dentre as cepas avaliadas,

podendo classifica-la como média produtora de H<sub>2</sub>S, a colônia de *S. cereviciae* Cotê des Blancs foi classificada como baixa produtora de H<sub>2</sub>S por ser levemente mais escura que a colônia de *S. bayanus* Premier Blanc que foi a que não apresentou a pigmentação escurecida, sendo assim selecionada para o processo fermentativo a ser realizado.

**Figura 10.** Características das colônias superprodutoras (A), médio produtoras (B), pouco produtoras (C) e não produtoras (D) de sulfeto de hidrogênio.



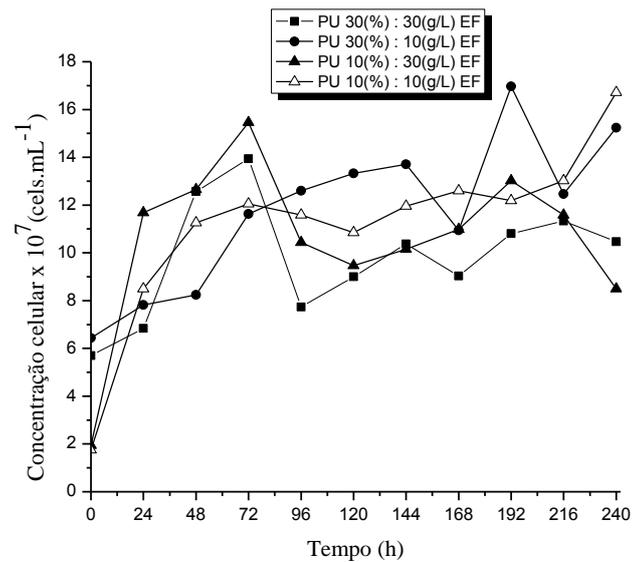
**Fonte:** Adaptado de Guimarães (2005).

### 5.3. PROCESSO FERMENTATIVO

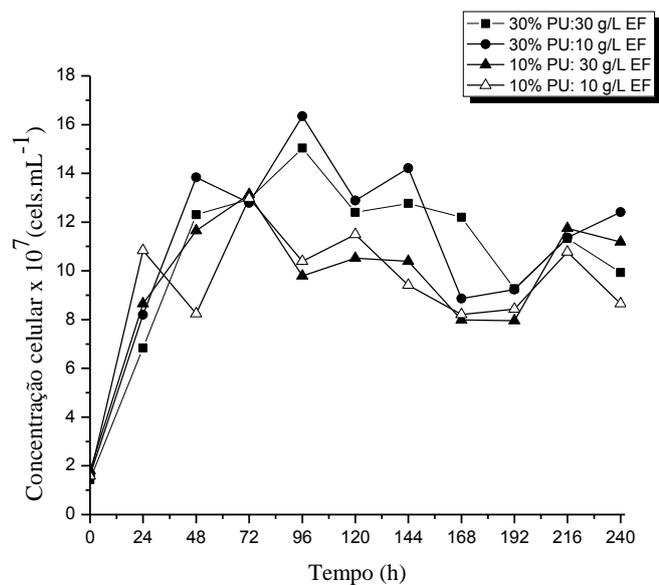
5.3.1. Perfis das concentrações celulares, concentrações de açúcares, concentrações de etanol.

Comprovado a qualidade das matérias primas (mel, polpa comercial de umbu e extrato de feijão caupi), realizou-se o acompanhamento da evolução do processo fermentativo. As concentrações celulares durante as fermentações dos mostos de mel (35, 25 e 15° Brix) de cada ensaio em função das suplementações com polpa comercial de umbu nas concentrações de (30, 20 e 10%) e extrato de feijão caupi nas concentrações de (30, 20 e 10 g.L<sup>-1</sup>) na produção de hidromel durante 240 horas de fermentação, são apresentadas na Figura 11.

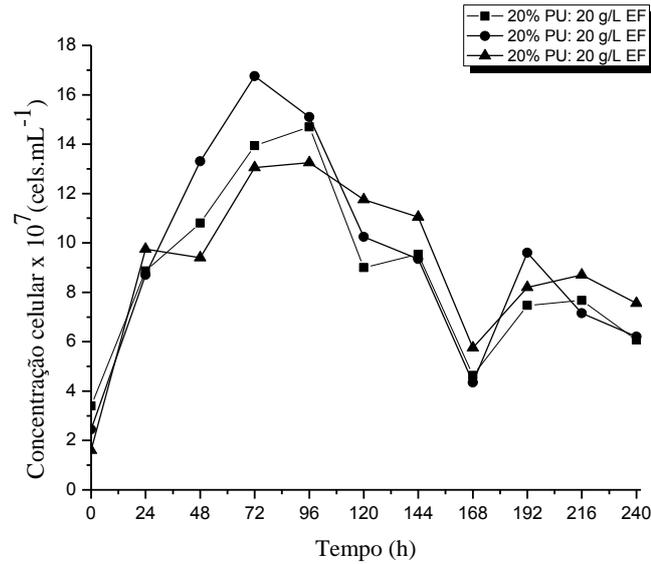
**Figura 11.** Perfil da concentração celular (células/mL) no mosto de mel suplementado com polpa comercial de umbu e extrato de feijão caupi fermentado pela levedura *Saccharomyces bayanus* Premier Blanc (A) mosto inicial 35 °Brix; (B) mosto inicial 15 °Brix; (C) mosto inicial 25 °Brix e (D) mosto inicial (25 °Brix (■ - 50% PU: 61,3 g/L EF); 25 °Brix (● - 50% PU: 5,3 g/L EF); 25 °Brix (▲ - 92% PU: 33,3 g/L EF); 25 °Brix (□ - 8% PU: 33,3 g/L EF); 41,8 °Brix (○ - 50% PU: 33,3 g/L EF) e 8,2 °Brix (△ - 50% PU: 33,3 g/L EF)).



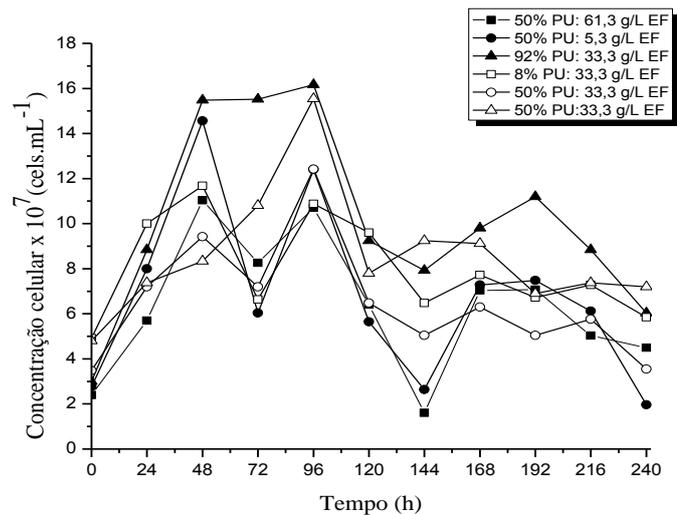
(A)



(B)



(C)



(D)

O crescimento celular apresentou o maior valor ( $14,2 \times 10^7$  cel.mL<sup>-1</sup>) na concentração de polpa de umbu 30%: 10g/L de extrato de feijão caupi após de 192 h e o menor valor ( $13,2 \times 10^7$  cel.mL<sup>-1</sup>) com o uso de concentração polpa de umbu 10% : 30g/L de extrato de feijão caupi após 72 h de fermentação para mosto inicial 35°Brix (A); maior valor ( $16,2 \times 10^7$  cel.mL<sup>-1</sup>) com o uso de concentração de polpa de umbu 30% : 10g/L de extrato de feijão caupi após de 96 h e o menor valor ( $12,7 \times 10^7$  cel.mL<sup>-1</sup>) na concentração polpa de umbu 10% : 30g/L de extrato de feijão caupi após 72 h de fermentação para mosto inicial 15°Brix (B); maior valor ( $14,7 \times 10^7$

cel.mL<sup>-1</sup>) na concentração de polpa de umbu 20% : 20g/L de extrato de feijão caupi após de 96 h e o menor valor ( $10,8 \times 10^7$  cel.mL<sup>-1</sup>) na concentração polpa de umbu 20% : 20g/L de extrato de feijão caupi após 96 h de fermentação para mosto inicial 25°Brix (C).

Pode-se constatar que a adição de extrato de feijão caupi independentemente do teor de sólidos solúveis (35, 25 e 15°Brix) dos mostos não favoreceu ao crescimento celular e atua inibindo a multiplicação celular verificando que o número de célula se manteve em crescimento quando a concentração de extrato de feijão adicionado foi menor nos três blocos dos mostos iniciais (A) 35°Brix, (B) 15°Brix e (C) 25°Brix. As leveduras apresentaram taxas semelhantes de crescimento na concentração de polpa de umbu 20% : 20g/L de extrato de feijão caupi após de 72 h. É possível concluir que maiores valores de crescimento celular foram obtidos com o uso de menores concentrações de extrato de feijão caupi (10% e 20%) ao longo do processo fermentativo. Assim a cepa *S. bayanus* não precisa de concentrações altas de suplementos para se desenvolver, pelo contrário seu crescimento foi inibido e atua bem em condições de estresse osmótico (35°Brix).

A viabilidade celular foi maior ao longo do processo fermentativo realizado com mosto com maior concentração de sólidos solúveis (35°Brix), maior concentração de polpa de umbu (30%) e com o uso de menor concentração de extrato de feijão caupi (10g/L) fato que não acontece no meio com concentrações maiores de extrato de feijão (30g/L). O uso de menores concentrações de extrato no meio de fermentação poderá inferir na diminuição de custos no processo relacionados com o preço de suplementos para a produção de hidromel.

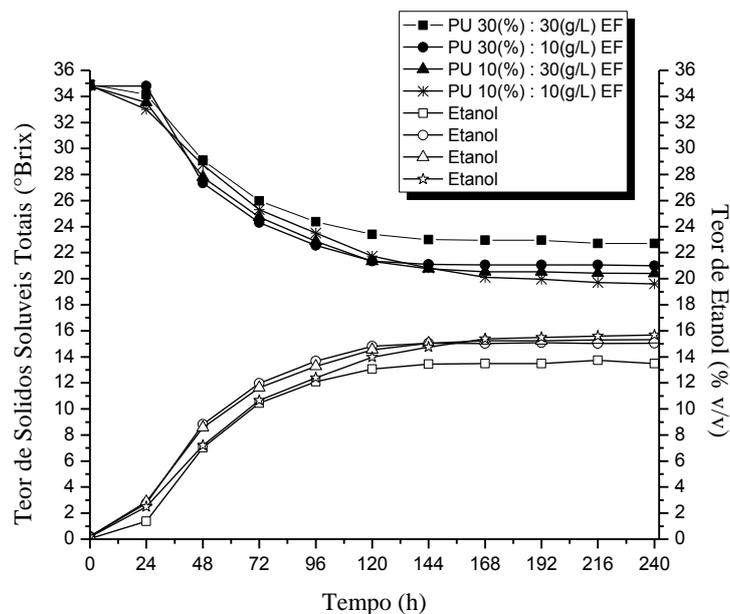
Alguns nutrientes específicos, tais como nitrogênio, minerais ou vitaminas são requeridos para obter uma fermentação rápida e com níveis de etanol elevados (ALFENORE et al., 2002). Minerais influenciam na taxa de conversão de açúcar e são necessários como cofatores para várias vias metabólicas. Ademais deficiências em vitaminas, especialmente tiamina e biotina, têm sido identificados como potencialmente responsáveis dos problemas de fermentação, tais como o crescimento lento da levedura. (PEREIRA et al., 2010; MAISONNAVE, 2013).

No entanto, a suplementação do mosto de mel com vitaminas ou sais não influenciou significativamente o rendimento da fermentação e o crescimento da levedura. Esses resultados indicam que os requerimentos de vitaminas y minerais da levedura foram fornecidos por o mel e a polpa de umbu que disponibilizaram nutrientes necessários para o desenvolvimento das mesmas, apresentando assim um efeito satisfatório na concentração celular. As diferentes concentrações e elementos minerais no mel dependem da sua origem botânico e geológico e méis escuras tem conteúdo mineral mais alto (0,2%) que os méis claros (0,04%) fato que

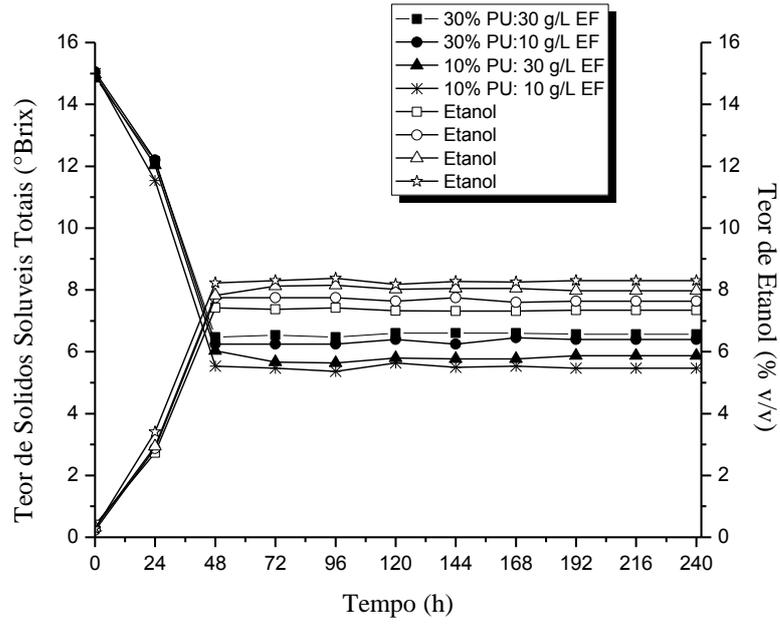
também pode contribuir no metabolismo microbiano (ANKLAM, 1998, FERNÁNDEZ-TORRES, 2005).

Os maiores valores de concentração celular durante a fermentação dos mostos contendo 35 e 15 °Brix, suplementados com 30% de polpa de umbu e 10 g.L<sup>-1</sup> de extrato de feijão caupi foram 14,2 e 16,2 x 10<sup>7</sup> cels.mL<sup>-1</sup>, após 192 e 96 h de fermentação, respectivamente. Estes resultados foram semelhantes aos obtidos por Balogu e Towobola (2017), para uma cepa de *S. cerevisiae*, que teve crescimento celular similar (16 x 10<sup>7</sup> cels.mL<sup>-1</sup>, após 60h) em fermentação de mosto composto por uma mistura de mel e água de coco a 25°C, com pH inicial igual a 3,5, e concentração celular inicial de inóculo igual a 1,0 x 10<sup>6</sup> cel.mL<sup>-1</sup> sendo que neste último caso, a adição do extrato aparentemente exerceu um certo efeito inibitório sobre o crescimento celular. A Figura 12 apresenta os perfis do teor de sólidos solúveis totais (SST, °Brix) no mosto e da concentração de etanol (% v/v) durante a fermentação dos mostos de mel.

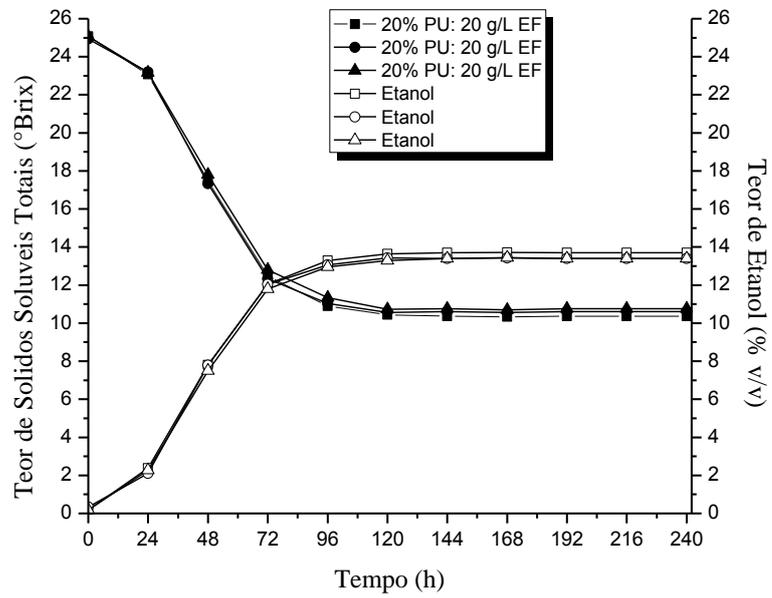
**Figura 12.** Perfil do teor de sólidos solúveis totais (°Brix) e produção de etanol (% v/v) durante o processo fermentativo de mosto de mel suplementado com polpa comercial de umbu e extrato de feijão caupi fermentado pela levedura Premier Blanc. (A) mosto inicial 35 °Brix; (B) mosto inicial 15 °Brix; (C) mosto inicial 25 °Brix e (D) mosto inicial (25 °Brix (■ 50% PU: 61,3 g/L), 25 °Brix (● - 50% PU: 5,3 g/L EF); 25 °Brix (▲ - 92% PU: 33,3 g/L EF); 25 °Brix (▼ - 8% PU: 33,3 g/L EF); 41,8 °Brix (◆ 50% PU: 33,3 g/L EF) e 8,2 °Brix (\* - 50% PU:33,3 g/L EF)).



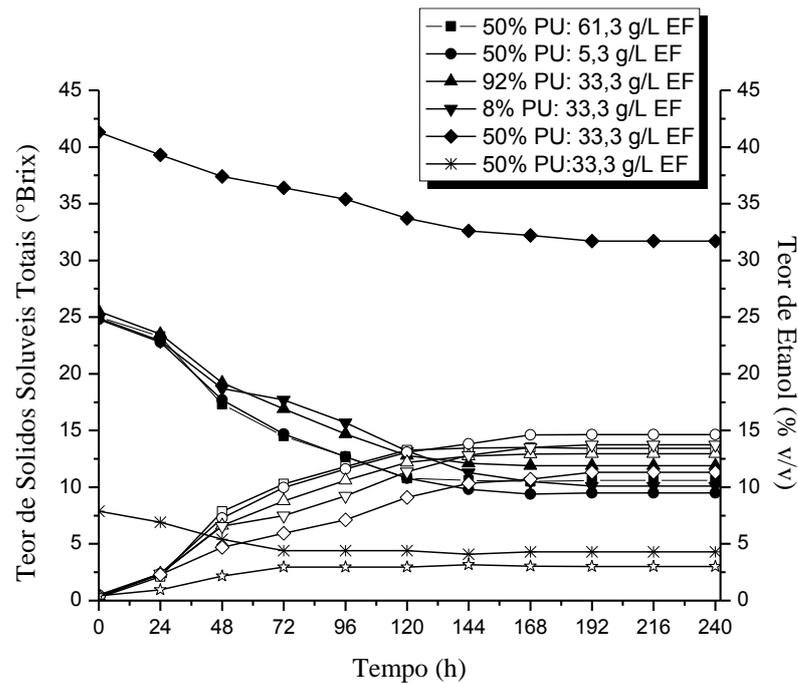
(A)



(B)



(C)



(D)

Nas primeiras 24 h de fermentação, independentemente da concentração de polpa utilizada no mosto, observa-se uma diminuição acentuada dos sólidos solúveis (°Brix) e um aumento na produção de etanol. Após 48 h de fermentação foram constatados consumos aproximados de (35,1; 40,0; 41,7 e 44,0)%; (56,0; 57,3; 60,7 e 62,2)%; (58,4; 42,4; e 42,8)% de sólidos solúveis para mostos 35, 15 e 25°Brix respectivamente, em relação ao início da fermentação, e posteriormente há uma estabilização no consumo de açúcares nos três ensaios avaliados. Enquanto que as concentrações de açúcares redutores totais reduziram em (51,6; 62,4; 74,9 e 81,2)%; (91,9; 94,6; 99,8 e 100)%; (98,6; 96,8 e 96,1)% para mostos contendo (35, 15 e 25) °Brix respectivamente.

Os maiores consumos de açúcares (62,7%) durante a fermentação foi com o uso de concentração de polpa de umbu 30% : 10g/L de extrato de feijão caupi para o mosto contendo 15 °Brix (Figura 12.B) e o menor consumo (35,1%) na concentração polpa de umbu 10% : 30g/L de extrato de feijão caupi para o mosto contendo 35°Brix (Figura 12.A), após de 240 h de fermentação.

As concentrações finais de etanol foram (13,7; 15,1; 15,33 e 15,69)% v/v para os mostos contendo 35°Brix; (13,7; 13,4 e 13,4)% v/v para mostos contendo 25°Brix e (7,4; 7,7; 8,1 e 8,3)% v/v para mostos contendo 15°Brix, ensaios A, B, C e D, respectivamente. Verificou-se,

portanto, que a concentração mais baixa foi obtida no ensaio (B) 7,4 %v/v; (57.3 g.L<sup>-1</sup>), correspondente a uma concentração de polpa de umbu de 30% e 30g/L de extrato de feijão, com teor de SST igual a 6,6 °Brix após de 240 h de fermentação.

O consumo de açúcares mais rápido foi observado quando o mosto foi suplementado com polpa 10%:10g/L extrato de feijão obtendo fermentados contendo 19,6 e 5,6°Brix (Figura 12 A e B). Segundo Mendes-Ferreira et al. (2010) a concentração de nitrogênio no mosto de mel tem forte impacto sobre a atividade fermentativa das leveduras. Estes autores observaram que a fermentação alcoólica do mosto de mel foi mais rápida tanto quanto maior a concentração do suplemento fosfato de amônio.

O maior valor final de etanol alcançado foi de 15,69% (v/v) para o mosto contendo um teor de sólidos solúveis inicial de 35°Brix, concentração de polpa de umbu de 10% e 10g/L de extrato de feijão, com teor de SST final igual a 19,6 °Brix, após 144 horas, mantendo-se assim até o final do processo fermentativo. O intervalo de tempo durante o qual houve a maior produção de álcool foi até 48, 96, 120 horas de fermentação (B, C e A) respectivamente. Esse resultado está de acordo com os encontrados por Bhatt et al. (1987), que observaram uma elevada produção de álcool nas primeiras 35 h de fermentação alcoólica utilizando *S. cerevisiae*, o tempo do processo fermentativo foi de 84 horas devido ao fato do mosto ter sido enriquecido com nutrientes como o sulfato de amônio e o fosfato de amônio. Fermentações que ocorrem com carência desses fatores de crescimento (nutrientes) são prolongadas; já a insuficiência de vitaminas é um fator menos sério, especialmente se uma concentração suficiente de nitrogênio está presente, considerando que a maioria das leveduras sintetizam as vitaminas para suas necessidades (STEINKRAUS, MORSE, 1966). Esses autores também observaram que, sem a adição de fatores de crescimento para as leveduras, alguns méis fermentaram muito lentamente e em outros a fermentação não ocorreu, enquanto que com a adição de nutrientes, todos os méis fermentaram rapidamente, sem a presença de flavors indesejáveis resultantes de fermentações demoradas. Queiroz (2014), obteve também resultados altos de teor de etanol (17,2 %).

Neste caso, nos mostos suplementados obteve-se teores de etanol semelhantes (15,6%; 8,3% e 13,6%) aos obtidos nos ensaios controles, sem suplementação com polpa de umbu e extrato de feijão caupi (13,9; 11,9 e 15,5) % nas concentrações de (35, 15 e 25) °Brix, respectivamente. Czabaj et al. (2017) relataram valores similares de teores alcoólicos em cultivos de *Saccharomyces bayanus* (11,98%) e *Saccharomyces cerevisiae* (16,53%) em mostos de mel multifloral e mel de melato a 36° Brix, na temperatura de 18 a 20°C em 720 h.

De acordo com Kempka e Mantovani (2013) a produção de hidromel com uso de mosto de mel (16 °Brix) dos tipos mel melato, silvestre e angico cultivados por *S.cerevisiae* nas condições de pH 5,45 e 36°C em 168 h apresentaram diminuição nos valores de sólidos solúveis totais em 58,5; 54,5 e 42,9%, respectivamente com, a produção de etanol de 9,0%, 8,0% e 6,5%, respectivamente. Demonstrando maiores valores no consumo de açúcares e na produção de etanol o mosto contendo mel de melato (âmbar) que tende a possuir maior teor de cinzas, nitrogênio (CAMPOS et al., 2003) e minerais variando o conteúdo de 0,04 % nos méis claros e 0,2 % em alguns méis escuros (ANKLAM, 1998) o que explica o melhor desempenho na fermentação do que o mel silvestre e de angico que são méis de origem floral.

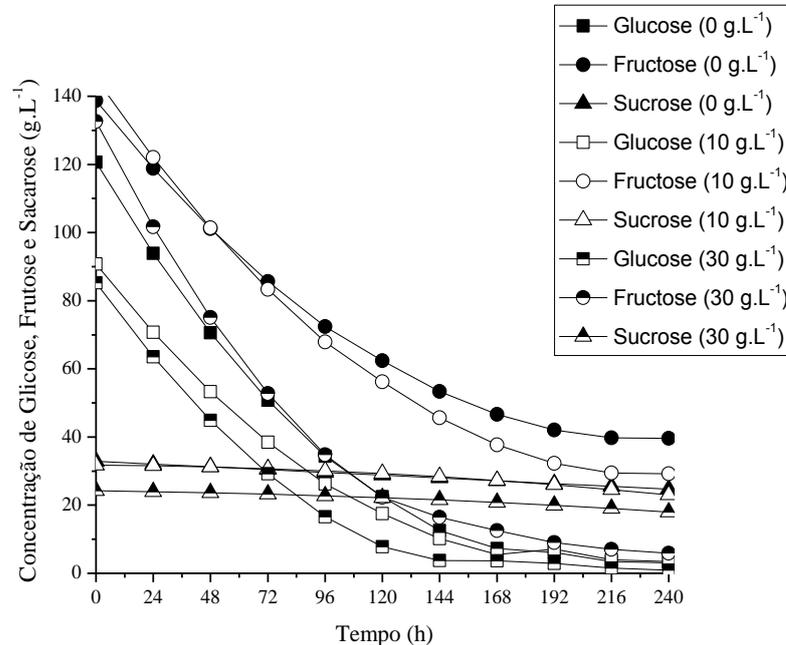
Varela et al. (2004) reportaram que mostos com concentrações maiores de fonte de nitrogênio assimilável (300 mg) resultaram na produção de vinho com maior teor alcoólico (12,7%(v/v) em 700 h de cultivo a pH 3,5 e temperatura de 28°C. Ukpabi (2006) também encontrou teores de etanol (12,7 – 15,0%) similares em hidromel produzido com mel floral a partir do néctar de várias espécies de mandioca (*Manihot esculenta*).

Em geral, leveduras do gênero *Saccharomyces* apresentam tolerância a meios contendo etanol, sendo a espécie, *S. cerevisiae*, aquela que possui normalmente a maior tolerância, seguida por *S. paradoxus* e *S. kudriavzevii* (ARROYO-LÓPEZ et al., 2010; BELLOCH et al., 2008) sendo este fato agora verificado para a espécie *S. bayanus*. A tolerância a 10% de etanol é considerada satisfatória para produção de bebidas fermentadas cuja concentração de etanol pode variar entre 4 e 18% (AQUARONE; LIMA; BORZANI, 1983).

A produtividade volumétrica de etanol é um parâmetro considerado importante (PEREIRA et al., 2009; SROKA; TUSZYNSKI, 2007; NAVRÁTIL; STURDIK; GEMEINER, 2011) e no presente trabalho a cepa *S. bayanus* Premier Blanc apresentou uma boa produtividade volumétrica em relação a etanol sem a necessidade da ação de suplementos nutricionais.

Na Figura 13 são apresentados os perfis das concentrações de glicose, frutose e sacarose ( $\text{g.L}^{-1}$ ) durante a fermentação de mostos de mel contendo um teor de sólidos solúveis de 35°Brix suplementados com concentrações de 0, 10 e 30  $\text{g.L}^{-1}$  de extrato de feijão caupi, durante o período fermentativo.

**Figura 13.** Perfis das concentrações de glicose, frutose e sacarose ( $\text{g.L}^{-1}$ ) durante a fermentação de mostos de mel contendo teor de sólidos solúveis inicial de  $35^\circ\text{Brix}$  suplementados com 0, 10 e 30 % de polpa comercial de umbu e 0, 10 e 30  $\text{g.L}^{-1}$  de extrato de feijão caupi.



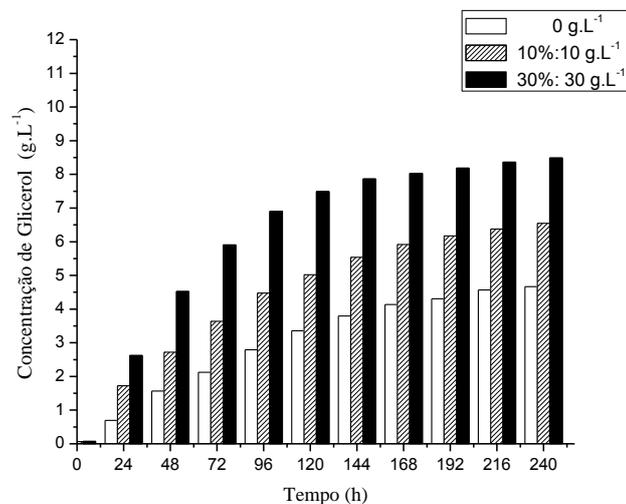
O açúcar predominante nos mostos, independente da concentração de extrato de feijão-caupi, foi a frutose, com concentrações entre (138,7; 141 e 132,6)  $\text{g.L}^{-1}$  que reduziram para (39,6; 29,2 e 5,8)  $\text{g.L}^{-1}$ , enquanto que as concentrações iniciais de glicose (120,6, 90,7 e 85,2)  $\text{g.L}^{-1}$  foram metabolizadas pela levedura até valores iguais a (3,1; 3,4 e 0,92)  $\text{g.L}^{-1}$ . A concentração de sacarose (32,9, 31,7 e 24,2)  $\text{g.L}^{-1}$  diminuiu de maneira menos acentuada (24,6; 23,0 e 18,0)  $\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente.

Quanto maior a concentração de extrato de feijão e de polpa de umbu utilizados no mosto de  $35^\circ\text{Brix}$ , maiores foram os percentuais de redução das concentrações de sacarose (25,2; 27,4 e 25,6)%, glicose (97,4; 96,2 e 98,9)% e de frutose (71,4; 79,3 e 95,6)%, após 240 h de fermentação.

Ilha et al. (2008) relataram valores similares aos reportados neste trabalho para o consumo de substrato (88,5%) em mosto fermentado nas condições de  $21^\circ\text{Brix}$  a  $25^\circ\text{C}$  durante 84 h, inoculada com fermento comercial desidratado de *S. cerevisiae* enquanto que Gomes et al. (2015) também constataram um alto consumo de substrato (80%) na fermentação de mosto de mel para produção de hidromel doce. Os mesmos autores, bem como Pereira et al. (2009) observaram um consumo simultâneo da glicose e frutose, assim como aconteceu no presente

trabalho, relataram também um consumo de substrato similar (aproximadamente 82%) com o uso de duas cepas de *S. cerevisiae* (Lalvin QA23 e Lalvin ICV D47) em mostos com 37% m/v de mel, fermentados a 25°C, por 96 h. Na Figura 14 mostram-se as concentrações de glicerol ao longo do tempo de fermentação.

**Figura 14.** Perfis das concentrações de glicerol durante a fermentação de mosto de mel para 35°Brix suplementado nas respectivas concentrações de polpa de polpa de umbu (%), extrato de feijão caupi (g/L) e (0 g/L) sem suplementação.



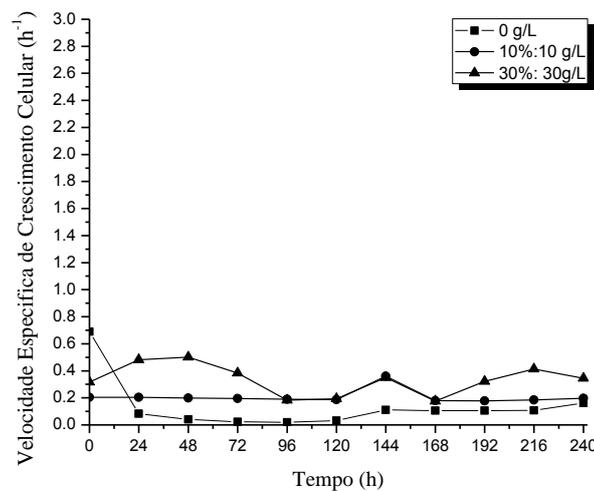
Quanto maior a concentração de extrato de feijão-caupi utilizado na suplementação dos mostos de mel, maiores foram os teores de glicerol produzidos ao longo da fermentação, sendo os valores ao início da fermentação (0,05; 0,06; 0,07) g.L<sup>-1</sup> após de 240 h, os valores foram iguais a (4,67, 6,55 e 8,49) g.L<sup>-1</sup>, para os mostos contendo 0, 10 e 30% de polpa de umbu e 0, 10 e 30 g.L<sup>-1</sup> de extrato de feijão-caupi, respectivamente.

Czabaj *et al.* (2017) obtiveram, em hidroméis, concentrações similares de glicerol (7,41 – 9,45) g.L<sup>-1</sup> às encontradas neste trabalho e os mesmos autores mencionaram que estes valores normalmente são encontrados em diversos tipos de hidroméis. No entanto, Gomes *et al.* (2015) reportaram valores inferiores de glicerol para hidroméis “doces” 5,1 g.L<sup>-1</sup> e “secos” 5,96 g.L<sup>-1</sup> após 79 h e 198 h de fermentação, respectivamente. Pereira *et al.* (2009) também relataram valor médios de concentração de glicerol (5 g.L<sup>-1</sup>) nos tempos finais de fermentação (192 – 312 h) para três cepas de *S. cerevisiae* testadas na produção de hidromel a partir da fermentação de mosto de méis claro e escuro a 27°C.

### 5.3.2. Cinética da fermentação

Na Figura 15 estão expostas as velocidades específicas de crescimento celular ( $\mu_X$ ), durante a fermentação dos mostos de mel para 35° Brix, suplementados com polpa comercial de umbu e extrato de feijão caupi, e sem adição de suplementos.

**Figura 15.** Perfis das velocidades específicas de crescimento celular durante a fermentação de mosto de mel para 35°Brix suplementado nas respectivas concentrações de polpa de polpa de umbu (%), extrato de feijão caupi (g/L) e (0 g/L) sem suplementação.

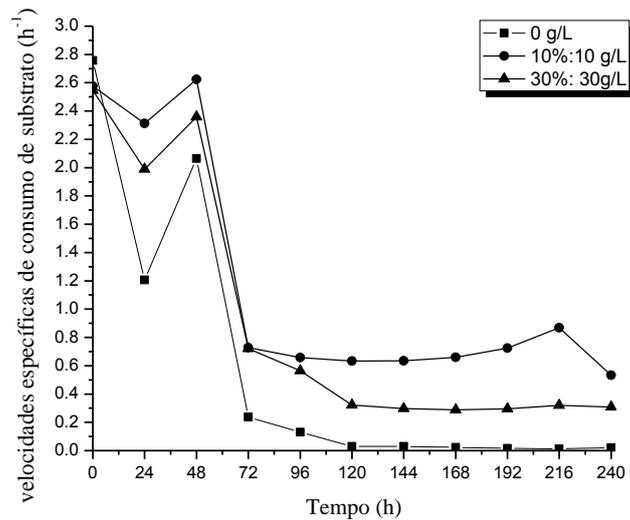


Os valores de  $\mu_X$  foram superiores, durante todo o período fermentativo, nos mostos sem adição de polpa de umbu e de extrato de feijão-caupi, com um valor máximo de  $0,68 h^{-1}$  a 24 h e após 144 h de fermentação, enquanto que os mostos suplementados com 10 % de polpa comercial de umbu e  $10 g.L^{-1}$  de extrato de feijão-caupi apresentaram valores menores deste parâmetro ( $0,02 h^{-1}$ ) e nos mostos com concentração de polpa de umbu 30%: $30 g.L^{-1}$  de extrato de feijão-caupi, foi  $0,8$  após das 144 h de fermentação. Sendo assim, que a adição destes dois suplementos não influenciou significativamente sobre os valores de  $\mu_X$ .

Pereira et al. (2013) reportaram valores de  $\mu_X$  iguais a  $0,15$  e  $0,16 h^{-1}$ , respectivamente, após 96 h de fermentação de mosto de mel para a produção de hidromel, utilizando duas cepas de *S. cerevisiae* (IVC D47 e QA23). Valores similares ( $0,14$  e  $0,22 h^{-1}$ ) foram reportados por Barbosa et al. (2014) para duas cepas de *S. cerevisiae* utilizadas na produção de vinho obtido a partir de mostos de suco de uva sintético, suplementados com  $67$  e  $670 mg.L^{-1}$  de fosfato de amônio bifásico como fonte de nitrogênio, sendo que os mesmos autores também relataram que a diferença da concentração de fonte de nitrogênio nos mostos não altera os valores máximos

da velocidade específica de crescimento celular. As velocidades específicas de consumo de substrato ( $\mu_s$ ) estão expostas na Figura 16.

**Figura 16.** Perfis das velocidades específicas de consumo de substrato durante a fermentação de mosto de mel de 35°Brix suplementado nas respectivas concentrações de polpa de polpa de umbu (%), extrato de feijão caupi (g/L) e (0 g/L) sem suplementação.

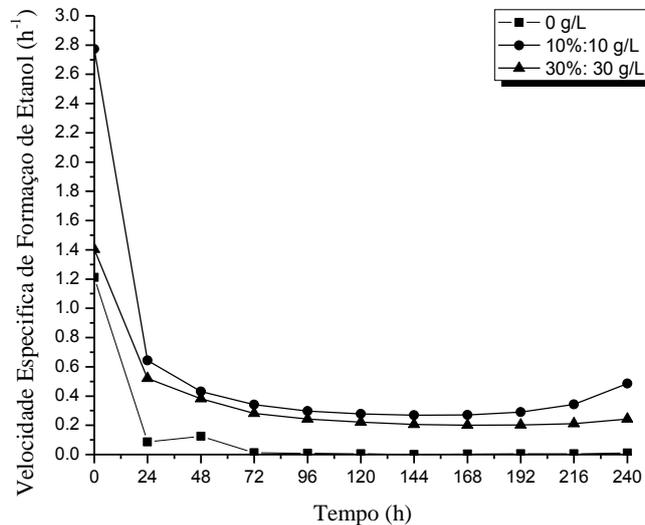


Os valores de  $\mu_s$  nos mostos de mel suplementados com polpa comercial de umbu 10 % : 10  $\text{g.L}^{-1}$  de extrato de feijão caupi apresentaram maiores valores relação ao mosto com concentrações de polpa comercial de umbu 30 % : 30  $\text{g.L}^{-1}$  de extrato de feijão caupi e os mostos sem suplementação, sendo que, após 48 h de fermentação, atingiu-se o maior valor de ( $2,78 \text{ h}^{-1}$ ) e após 72 h houve uma queda dos valores ( $0,8 \text{ h}^{-1}$ ) até manter-se a estabilização após 120 h de fermentação.

Os mostos sem suplementação apresentaram menores valores de velocidades de consumo de substrato ( $1,91 \text{ h}^{-1}$ ) após 48 h, neste parâmetro a suplementação com o extrato não inibiu o processo de consumo de substrato da levedura, nos mostos com concentrações mais elevadas de suplementação (30:30) apresentaram ligeiros aumentos até atingir seu valor máximo ( $2,33 \text{ h}^{-1}$ ), após 48 h.

Na figura 17 apresenta o perfil da velocidade específica de produção de etanol ( $\mu_P$ ) durante a fermentação dos mostos de mel suplementados com polpa comercial de umbu e extrato de feijão caupi.

**Figura 17.** Perfis das velocidades específicas de formação de etanol durante a fermentação de mosto de mel de 35°Brix suplementado nas respectivas concentrações de polpa de polpa de umbu (%), extrato de feijão caupi (g/L) e (0 g/L) sem suplementação.

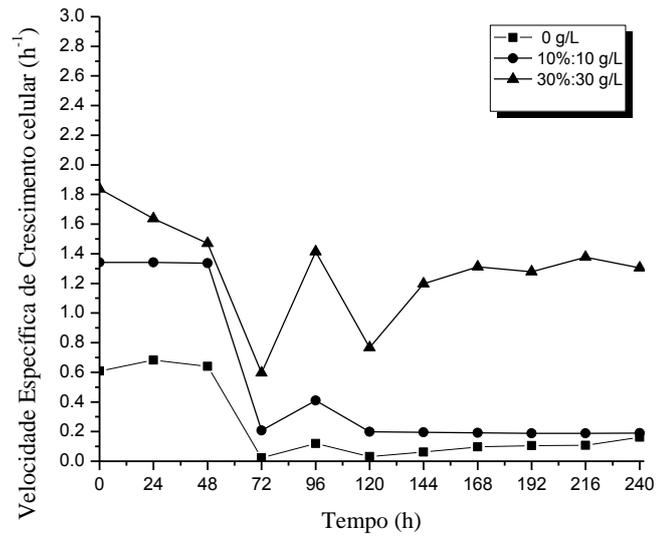


Os mostos com polpa comercial de umbu 10 % : 10 g.L<sup>-1</sup> de extrato de feijão caupi apresentaram os maiores valores de  $\mu_P$  em relação aos mostos (contendo 30:30 e sem adição de suplementação) o maior valor de  $\mu_P$  foi no início da fermentação com 24h (3,21 h<sup>-1</sup>), apresentaram uma redução após 48 h, a partir desse tempo os valores se mostraram estáveis. Os valores de  $\mu_S$  nos mostos suplementados com polpa comercial de umbu 30 % : 30 g.L<sup>-1</sup> de extrato de feijão caupi apresentaram menores valores (1,50 h<sup>-1</sup>), semelhante ao mosto sem suplementação (1,21 h<sup>-1</sup>) após 24 h, pode-se verificar que a adição de suplementos em concentrações altas não deixa se-desenvolver bem a cepa de *S. bayanus* Premier Blanc.

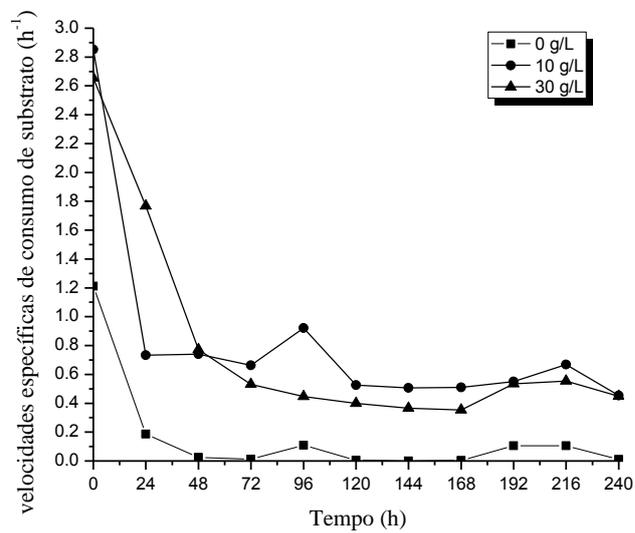
No entanto a suplementação com concentração moderada (10:10) indica pode ajudar a melhorar o consumo de substrato e posterior produção de etanol.

As velocidades específicas de crescimento celular ( $\mu_X$ ), consumo de substrato ( $\mu_S$ ) e de formação de etanol ( $\mu_P$ ) durante a fermentação de mosto de água e mel para 15°Brix estão expostas nas Figuras 18, 19 e 20 respectivamente.

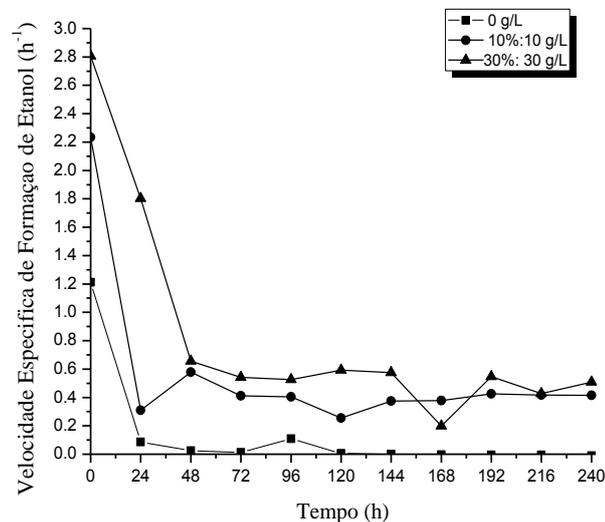
**Figura 18.** Perfis das velocidades específicas de crescimento celular, durante a fermentação de mosto de água e mel para 15°Brix suplementado nas respectivas concentrações de polpa de polpa de umbu (%), extrato de feijão caupi (g/L) e (0 g/L) sem suplementação.



**Figura 19.** Perfis das velocidades específicas de consumo de substrato, durante a fermentação de mosto de água e mel para 15°Brix suplementado nas respectivas concentrações de polpa de polpa de umbu (%), de extrato de feijão caupi (g/L) e (0 g/L) sem suplementação.



**Figura 20.** Perfis das velocidades específicas de formação de etanol, durante a fermentação de mosto de água e mel para 15°Brix suplementado nas respectivas concentrações de polpa de polpa de umbu (%), extrato de feijão caupi (g/L) e (0 g/L) sem suplementação.



Na variação da concentração do mosto de água e mel para 15°Brix os valores de  $\mu_x$  (Figura 18) foram superiores, durante todo o período fermentativo, nos mostos com concentração de polpa de umbu 30%:30 g.L<sup>-1</sup> de extrato de feijão-caupi 2,7 h<sup>-1</sup> após 24 h, teve uma queda no tempo de 72 h até 0,7 h<sup>-1</sup>, no tempo 96 h atingiu 1,5 h<sup>-1</sup>, nesta variação a concentração maior de extrato exerceu uma maior influência no crescimento celular. Nos ensaios com concentração de polpa de umbu 10 % :10 g.L<sup>-1</sup> e de extrato de feijão-caupi, e sem adição destes suplementos atuaram bem semelhantes após 72 h de fermentação com um valor máximo de (0,1 e 0,4) h<sup>-1</sup>. Sendo assim, que a adição destes dois suplementos influenciou significativamente sobre os valores de  $\mu_x$ .

Para os valores de  $\mu_s$  (Figura 19) nos mostos de mel suplementados com concentrações de polpa de umbu 30 % : 30 g.L<sup>-1</sup> de extrato de feijão caupi e polpa de umbu 10 % : 10 g.L<sup>-1</sup> de extrato de feijão caupi, apresentaram maiores valores (2,7 e 2,8 h<sup>-1</sup>) após 24 h, houve uma queda dos valores até 0,7 h<sup>-1</sup> após 72 h para logo manter-se a estabilização até 240 h de fermentação. Neste parâmetro a suplementação com o extrato e polpa não inibiu o processo de consumo de substrato da levedura. Os mostos sem suplementação apresentaram menores valores de velocidades de consumo de substrato após 24 h apresentaram ligeiros aumentos até atingir seu valor máximo (1,1 h<sup>-1</sup>) teve uma queda (0,1 h<sup>-1</sup>), após 48 h para logo manter-se a estabilização até 240 h de fermentação.

Para os valores de  $\mu_p$  (Figura 20) nos mostos de mel suplementados com concentrações de polpa de umbu 30 % : 30 g.L<sup>-1</sup> de extrato de feijão caupi e polpa de umbu 10 % : 10 g.L<sup>-1</sup> de extrato de feijão caupi, apresentaram maiores valores (2,8 e 2,2 h<sup>-1</sup>) após 24 h, houve uma queda dos valores até (0,6 0,3) h<sup>-1</sup> respectivamente após 72 h para logo manter-se a estabilização até 240 h de fermentação. Para os valores de  $\mu_p$  pode-se verificar que a adição de suplementos em concentrações altas forneceu ao melhor consumo de açúcares da cepa de *S. bayanus* Premier Blanc para posterior produção de etanol.

O tempo em que os teores de sólidos solúveis, de açúcares redutores totais e etanol nos mostos de mel em fermentação começaram a se estabilizar foi em 144 h.

### 5.3.3. Análises estatística dos resultados

A Tabela 18 apresenta os resultados obtidos nas fermentações, com relação a concentração celular, consumo de substrato, produção de etanol, e os valores de  $Y_p/s$ ,  $Q_p$  e  $\epsilon$ , em função do TSST, CPU e CEF previstos no planejamento em 144 horas de fermentação.

**Tabela 18.** Matriz dos valores reais das variáveis experimentais independentes e dependentes, para os ensaios 1 a 11 e Parâmetros fermentativos obtidos em diferentes concentrações de TSST, CPU e CEF segundo o planejamento fatorial  $2^3$  com triplicata do ponto central, após 144 h de fermentação.

<b>Ensaio</b>	<b>TSST (°Brix)</b>	<b>CPU (%)</b>	<b>CEF (g.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Concentração celular (cel.mL<sup>-1</sup>)</b>	<b>Consumo dos açúcares redutores</b>	<b>Teor de Etanol (%v/v)</b>	<b>Yp/s (g/g)</b>	<b>Qp (g/L.h)</b>	<b><math>\epsilon</math> (%)</b>
1	35	30	30	10,37	196.084	13,45	0,540	0,729	98,72
2	35	30	10	11,90	148.727	15,04	0,458	0,814	89,69
3	35	10	30	9,33	106.961	15,04	0,393	0,815	76,93
4	15	10	10	10,63	95.729	14,75	0,372	0,799	72,80
5	15	30	30	12,77	12.667	7,32	0,388	0,396	75,98
6	15	30	10	14,00	5.863	7,75	0,394	0,421	77,17
7	15	10	30	8,93	1.264	8,05	0,390	0,436	76,39
8	15	10	10	9,97	0.687	8,28	0,391	0,448	76,51
9	25	20	20	9,53	3.873	13,70	0,391	0,742	76,42
10	25	20	20	8,23	8.696	13,39	0,388	0,726	76,01
11	25	20	20	9,37	10.543	13,39	0,391	0,725	76,58

De acordo com os resultados obtidos, o crescimento celular, produção de etanol, consumo de substrato e os parâmetros fermentativos  $Y_p/s$ ,  $Q_p$  e  $\epsilon$  deram os melhores valores com a maior concentração do TSST (35°Brix) e polpa de umbu (30%) independentemente da concentração do extrato de feijão caupi, após 144 h de fermentação.

A análise estatística dos resultados obtidos através do planejamento fatorial  $2^3$  com face centrada foi efetuada, sendo que os coeficientes de regressão, erros-padrão, valores de t, níveis de significância e análise de variância dos coeficientes do modelo que representam a produtividade volumétrica, estão apresentados na Tabela 19. Pelos resultados obtidos verificou-se que o teor de sólidos solúveis totais, a concentração de polpa de umbu têm efeito principal significativo ao nível de 5% de significância, assim como a concentração de extrato de feijão caupi, não teve efeito significativo, uma vez que os valores calculados de t para estes efeitos foram superiores aos valores de t tabelados.

**Tabela 19.** Coeficientes de regressão, erros-padrão, teste t de “Student” e nível de significância para o modelo representativo do fator de conversão de substrato em produto ( $Y_p/s$ ) da conversão de açúcares em etanol por *S. bayanus* Premier Blanc, segundo o planejamento com face centrada.

Efeitos	Coefficientes	Erros-padrão	t	p
Constante	0,388556	0,013540	28,69653	0,000000
CPU (L)	0,020128	0,012725	3,16365	0,015847
CPU (Q)	0,005246	0,014018	0,74838	0,478615
CEF (L)	0,003576	0,012725	0,56200	0,591645
CEF (Q)	0,003841	0,014018	0,54805	0,600692
TSST (L)	0,012272	0,012725	1,92882	0,095087
TSST (Q)	0,004684	0,014018	0,66832	0,525347
CPU x CEF (L)	0,002449	0,016618	0,29475	0,776736
CPU x TSST (L)	0,024544	0,016618	2,95386	0,021290
CEF x TSST (L)	0,009231	0,016618	1,11097	0,303280

\*: significativo ao nível de 5 % de significância ( $t \geq 2,26$ ).

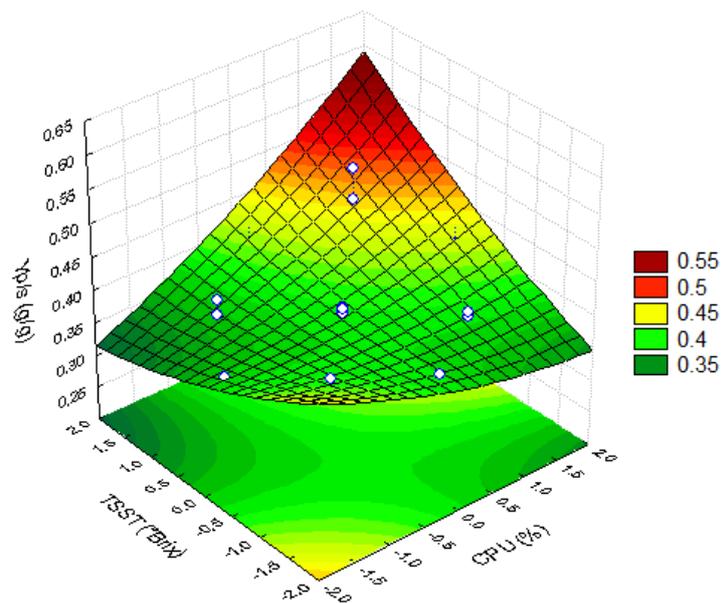
**Tabela 20.** ANOVA, por erro total e intervalo de confiança de 95%, para os fatores de conversão de substrato em produto nos mostos de mel água para 35°Brix, após 144 h de fermentação.

<b>Efeitos</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>MQ</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
CPU (L)	0,005528	1	0,005528	10,00869	0,015847
CPU (Q)	0,000309	1	0,000309	0,56008	0,478615
CEF (L)	0,000174	1	0,000174	0,31585	0,591645
CEF (Q)	0,000166	1	0,000166	0,30035	0,600692
TSST (L)	0,002055	1	0,002055	3,72036	0,095087
TSST (Q)	0,000247	1	0,000247	0,44665	0,525347
CPU x CEF (L)	0,000048	1	0,000048	0,08688	0,776736
CPU x TSST (L)	0,004819	1	0,004819	8,72531	0,021290
CEF x TSST (L)	0,000682	1	0,000682	1,23425	0,303280
Error	0,003866	7	0,000552		
Total	0,017636	16	$R^2 = 0,78077$		

A significância dos termos lineares do CPU e TSST confirmam a existência de curvatura na região de estudo (Tabelas 19 e 20). A análise de variância da regressão demonstra que o modelo que representa a conversão de substrato em produto é significativo ao nível de 95 % de confiança ( $p \leq 0,05$ ), e consegue estimar 78,1 % da variância em função do valor de os efeitos linear da CPU, CEF e TSST e da interação entre CPU x TSST.

A Figura 21 apresenta as superfícies de resposta do fator de conversão de substrato em produto ( $Y_{p/s}$ ) em função da concentração de polpa de umbu e do teor de sólidos solúveis totais.

**Figura 21.** Superfície de resposta do fator de conversão de substrato em produto ( $Y_{p/s}$ ) em função da concentração de e polpa de umbu e teor de sólidos solúveis totais.



Com base nos resultados obtidos, considerando os termos significativos, e com auxílio da metodologia de superfície de resposta, obteve-se um modelo matemático para representar a resposta para a conversão de substrato em produto.

$$Y_{p/s} = 0,388556 + 0,020128 \text{ CPU} + 0,012272 \text{ TSST} + 0,024544 \text{ CPU} \cdot \text{TSST}$$

Onde:  $x_1$  representa CPU e  $x_2$  é TSST

De acordo com o gráfico da superfície de resposta (Figura 21) pode-se constatar a existência de uma região com maior valor de  $Y_{p/s}$ . Nesta região é previsto um  $Y_{p/s}$  igual a 0,55 g/g com o uso de maiores valores de CPU e TSST.

Pelos resultados obtidos para a resposta produtividade volumétrica em etanol ( $Q_p$ ) verificou-se que o efeito linear e quadrático da concentração de polpa de umbu e o efeito quadrático do TSST foram significativos ao nível de 95% de confiança. Os efeitos linear e quadrático da CEF e da interação CPU x CEF foram significativos ao nível de 10% de probabilidade, uma vez que os valores calculados de t para estes efeitos foram superiores aos valores de t tabelados (Tabelas 21 e 22).

**Tabela 21.** Coeficientes de regressão, erros-padrão, teste t de “Student” e nível de significância para o modelo representativo da produtividade volumétrica ( $Q_p$ ) da conversão de açúcares em etanol por *S. bayanus* Premier Blanc, segundo o planejamento com face centrada.

<b>Efeitos</b>	<b>Coefficientes</b>	<b>Erros-padrão</b>	<b>t</b>	<b>p</b>
Constante	0,729853	0,091740	7,95571	0,000000
CPU (L)	0,037846	0,086214	0,87796	0,409088
CPU (Q)	-0,125723	0,094980	-2,64737	0,033068
CEF (L)	-0,008495	0,086214	-0,19707	0,0849373
CEF (Q)	-0,009946	0,094980	-0,20943	0,840077
TSST (L)	0,104191	0,086214	2,41705	0,046292
TSST (Q)	0,006493	0,094980	0,13673	0,895097
CPU x CEF (L)	-0,014235	0,112594	-0,25285	0,807645
CPU x TSST (L)	-0,000537	0,112594	-0,00955	0,992649
CEF x TSST (L)	-0,004114	0,112594	-0,07308	0,943788

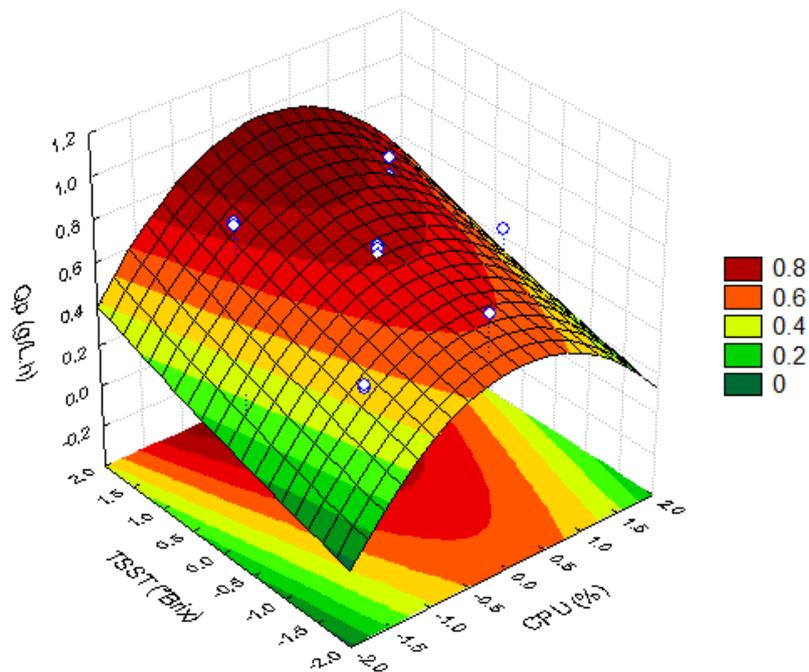
**Tabela 22.** ANOVA, por erro puro e intervalo de confiança de 95%, para as produtividades volumétricas de etanol nos mostos de mel após 144 h de fermentação.

<b>Efeitos</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>MQ</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
CPU (L)	0,019544	1	0,019544	0,770810	0,409088
CPU (Q)	0,177701	1	0,177701	7,008574	0,033068
CEF (L)	0,000985	1	0,000985	0,038836	0,084937
CEF (Q)	0,001112	1	0,001112	0,043861	0,840077
TSST (L)	0,148126	1	0,148126	5,842118	0,046292
TSST (Q)	0,000474	1	0,000474	0,018694	0,895097
CPU x CEF (L)	0,001621	1	0,001621	0,063936	0,807645
CPU x TSST (L)	0,000002	1	0,000002	0,000091	0,992649
CEF x TSST (L)	0,000135	1	0,000135	0,005340	0,943788
Error	0,177483	7	0,025355		
Total	0,552714	16	$R^2 = 0,67889$		

A significância dos termos quadráticos do CPU e TSST confirmam a existência de curvatura na região de estudo (Tabelas 21 e 22). A análise de variância da regressão demonstra que o modelo que representa a resposta produtividade é significativo ao nível de 95 % de confiança ( $p \leq 0,05$ ), e consegue estimar 67,9 % da variância em função das variáveis independentes.

A Figura 22 apresenta a superfície de resposta da produtividade volumétrica em etanol ( $Q_p$ ) em função do Teor de sólidos solúveis totais e da concentração de polpa de umbu.

**Figura 22.** Superfície de resposta produtividade volumétrica ( $Q_p$ ) em função do Teor de sólidos solúveis totais e da concentração de polpa de umbu.



De acordo com o gráfico da superfície de resposta (Figura 22) pode-se constatar a existência de uma região com maior valor de  $Q_p$ . Nesta região é previsto um  $Q_p$  igual a 0,8 g/L.h nas condições de maiores concentrações de teor de sólidos solúveis e de polpa de umbu independentemente da concentração de extrato de feijão.

Com base nos resultados obtidos, considerando os termos significativos, e com auxílio da metodologia de superfície de resposta, obteve-se um modelo matemático para representar a resposta  $Q_p$ .

$$Q_p = 0,729853 - 0,125723 \text{ CPU}^2 - 0,008495 \text{ CEF} + 0,104191 \text{ TSST}$$

Onde:  $x_1$  representa CPU<sup>2</sup>,  $x_2$  é CEF e  $x_3$  é TSST

Com a finalidade de validar o modelo obtido para as respostas de fator de conversão de substrato em produto  $Y_{p/s}$  e produtividade volumétrica  $Q_p$  realizou-se uma nova fermentação a escala laboratorial ampliada nas condições determinadas pelo modelo (TSST 35°Brix, CPU = 30 % e CEF= 20g.L<sup>-1</sup>).

#### 5.4. ESCALA LABORATORIAL AMPLIADA

Na Tabela 23 estão apresentados os valores de sólidos solúveis, concentração celular, percentagem de etanol e parâmetros fermentativos em escalas de 250 mL e 5 L na produção de hidromel com polpa de umbu e extrato de feijão caupi com o uso de *S. bayanus* Premier Blanc às 144h de fermentação.

**Tabela 23.** Comparação dos dados da escala laboratorial ampliada e dos ensaios de bancada.

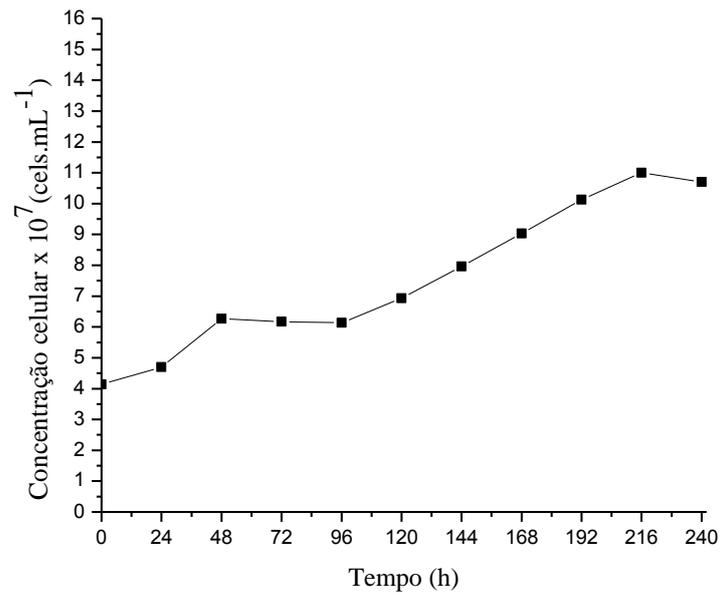
	Ensaio de bancada	Escala Laboratorial Ampliada
Sólidos solúveis inicial (°Brix)	34,9	34,9
Sólidos solúveis final (°Brix)	21,1	19,9
Concentração celular inicial (cel.mL)	3,3 x 10 <sup>7</sup>	4,1 x 10 <sup>7</sup>
Concentração celular final (cel.mL)	11,9 x 10 <sup>7</sup>	10,7 x 10 <sup>7</sup>
Etanol inicial (% v/v)	0,16	0,15
Etanol final (% v/v)	15,0	15,5
Etanol inicial (g/L)	1,61	1,18
Etanol final (g/L)	117,3	121,5
$Y_{p/s}$ (g/g)	0,55	0,39
$Q_p$ (g.L.h)	0,80	0,51
$\epsilon$ (%)	89,7	77,8

**Fonte:** Da autora.

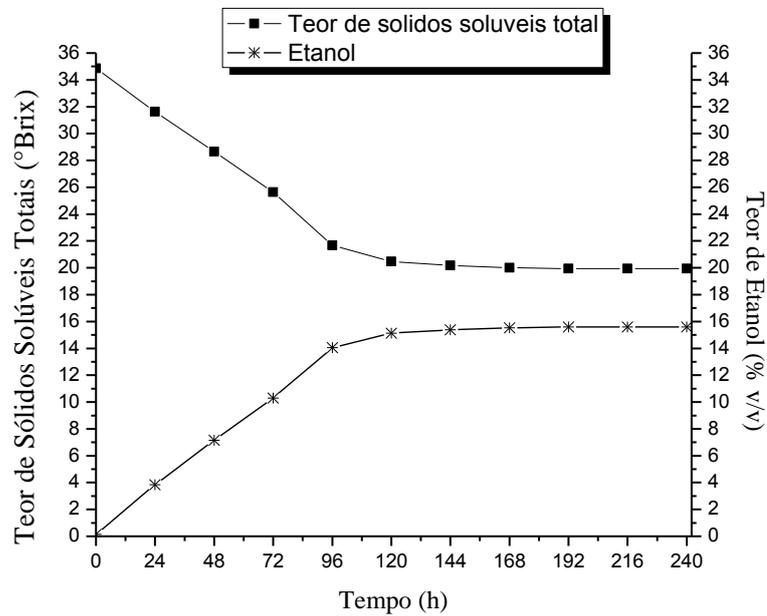
Na escala de 5 L foram obtidos similares resultados aos obtidos na fermentação de ensaios em bancada (250 mL) com o uso da levedura *S. bayanus* Premier Blanc foi obtida uma redução de sólidos solúveis de 39,5% na escala laboratorial ampliada e de 42,9% na escala de 250 mL, menor concentração de células ( $10,7 \times 10^7$  cel/mL) foi atingida na maior escala, porém uma diferença de 4 g/L na concentração de etanol quando comparada com a produção de etanol maior que na escala de bancada (15,5 %v/v). Similares valores dos parâmetros fermentativos fator de conversão de substrato em produto, produtividade volumétrica em etanol foram obtidos em ambas escalas, porém uma maior eficiência fermentativa na escala de bancada 89,7%.

Os teores de etanol encontrados nos hidroméis referentes ao trabalho de Amorim (2017) que trabalhou nas condições de mosto contendo um teor de sólidos solúveis igual a 30°Brix, suplementado com extrato de levedura (5 g/L), extrato de malte (5 g/L), peptona (10 g/L), cloreto de magnésio (0,05 g/L), sulfato de amônio (0,3 g/L) e fosfato de amônio dibásico (0,05 g/L) e polpa de acerola nas concentrações de 0, 10, 15, 20, 25 e 30% e pH igual a 5,0 foram, em sua maioria, semelhantes aos encontrados no presente trabalho, com valores de crescimento celular igual a  $3,1 \times 10^7$  cel/mL, de concentração de etanol de 113,9 g/L e 14,4% v/v assim como valores para os parâmetros fermentativos de fator de conversão de substrato em produto (0,39 g/g), produtividade volumétrica em etanol foram obtidos (0,78 g/L.h) e uma eficiência fermentativa de 77,51%. Esses valores podem ter sido menores pela diferença da concentração do mosto (30°Brix) e pela cepa de levedura utilizada *S. cerevisiae* Montrachet referentes ao presente trabalho (35°Brix).

**Figura 23.** Perfil da concentração celular (células/mL) no mosto de mel suplementado com polpa comercial de umbu 30%: 20g/L de extrato de feijão caupi com mosto inicial 35 °Brix em escala laboratorial ampliada.



**Figura 24.** Perfil do teor de sólidos solúveis totais (°Brix) e produção de etanol (% v/v) em escala laboratorial ampliada.



## 6. CONCLUSÃO

A partir da caracterização físico-química das matérias primas mel, polpa de umbu e extrato de feijão foi verificada que todas possuem propriedades ideais para seu uso na produção de hidromel.

A cepa de *S. bayanus* Premier Blanc foi selecionada por apresentar a menor formação de sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S).

A *S. bayanus* foi capaz de crescer em concentrações de etanol até 15,1% (v/v) com viabilidade celular superior a 95% ao longo do processo fermentativo, alcançando maior número de células  $14,2 \times 10^7$  cel/mL na fermentação usando maior teor de sólidos solúveis inicial (35 °Brix), um 30% de polpa de fruta e 20 g/L de extrato de feijão caupi.

O máximo teor alcoólico (15,1%) alcançado sugere que a composição da polpa de umbu pode contribuir para aumentar a tolerância CON ao etanol pela levedura.

É possível produzir hidromel utilizando polpa de umbu como suplemento para melhorar o desempenho do processo fermentativo e diminuir os custos de produção de hidromel.

Recomenda-se para trabalhos futuros avaliar o processo fermentativo em batelada alimentar e em sistema contínuo; avaliar o reaproveitamento das leveduras de *S. bayanus* em fermentações sucessivas; avaliar outras polpas típicas da região no processo fermentativo de produção de hidromel, bem como realizar o cálculo da viabilidade econômica da tecnologia de produção de hidromel.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENORE, S.; MOLINA-JOUVE, C.; GUILLOUET, S. E.; URIBELARREA, J.-L.; GOMA, G.; BENBADIS, L. Improving ethanol production and viability of *Saccharomyces cerevisiae* by a vitamin feeding strategy during fedbatch process. *Appl. Microbiol. Biotechnol. Appl.* 60, 67–72. 2002.
- ANDRADE, R. S. G. de; DINIZ, M. C. T.; NEVES, E. A. Determinação e distribuição de ácido ascórbico em três frutos tropicais. *Eclética Química, Araraquara*, v. 27, p. 393-401, 2002.
- ANKLAM, E. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry, Barking*, v. 63, n. 4, p. 549-562, 1998.
- ARRÁEZ-ROMÁN, D., GÓMEZCARAVACA, A.M., GÓMEZ-ROMERO, M., SEGURA-CARRATERO, A., FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Identification of phenolic compounds in rosemary honey using solid-phase extraction by capillary electrophoresis electrospray ionization-mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1648-1656. 2006.
- AZEREDO, M. A. A.; AZEREDO, L. C.; DAMASCENO, J. G. Características físico-químicas dos méis do município de São Fidélis - RJ. *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas*, v. 19, n. 1, p. 3-7, 1999.
- BAI, F. W.; ANDERSON, W. A.; MOO-YOUNG, M. Ethanol fermentation Technologies from sugar and starch feedstocks. *Biotechnology Advances*, v.26, p. 89-105, 2008.
- BATISTA, A. G; OLIVEIRA, B. D; OLIVEIRA, M. A; GUEDES, T. J; SILVA, D. F.; PINTO, N. A. V. D. Parâmetros de qualidade de polpas de frutas congeladas: uma abordagem para produção do agronegócio familiar no Alto Vale do Jequitinhonha. *Tecnol. & Ciên. Agropec.*, João Pessoa, v.7, n.4, p.49-54, dez. 2013.
- BATISTA, F. R.; SILVA, M. M.; ARAUJO, V. S. Uso sustentável do umbuzeiro: estratégia de convivência com o semiárido. Campina Grande: INSA, 2015.
- BAYMA, A. B. Perfil sensorial e instrumental de méis silvestres de abelhas africanizadas (*Apis mellífera*) das cinco mesorregiões do estado de Maranhão. Tese de Doutorado UFRRJ, Soropédica, RJ, 2008.
- BERRY, B. The global mead market: opportunities for canadian mead exporters. Ottawa, Ontário; Agriculture and Agri-Food Canada, 2007. Disponível em: <http://www.agr.gc.ca/eng/programs-and-services/list-of-programs-and-services/agri-food-trade-service/?id=1410965065217>>. Acesso em: 10 de maio de 2018.

BEZERRA, A. K. P.; LACERDA, C. F.; HERNANDEZ, F. F. F.; SILVA, F. B.; GHEY, H. R. Rotação cultural feijão caupi/milho utilizando-se águas de salinidades diferentes. *Ciência Rural*, v. 40, n. 5, p. 1075-1082, 2010.

BRASIL, MAPA – Ministério da Agricultura e Abastecimento. Instrução Normativa No. 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. Disponível em: < <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=1690>>. Acesso: 14 de out. de 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 34, de 29 de novembro de 2012. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade das bebidas fermentadas: fermentado de fruta; fermentado de fruta licoroso; fermentado de fruta composto; sidra; hidromel; fermentado de cana; saquê ou sake. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 23 nov. 2012. Seção 1, p. 3.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 12 de 28 mar. 2008. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, D., F. 31 mar. Seção 1, p. 11-14.2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 23 out. 2000. Seção 1, p. 23. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>> Acesso em: 01 fev. 2018.

BRASILEIRA 2013-2014 / Embrapa Tabuleiros Costeiros. Reunião da Comissão brasileira de grãos, v. 1 - Safra 2013/14, n. 11 - Décimo Primeiro Levantamento, Brasília, p. 1-82, ago. 2014.

BRESSANI, R. Grain quality of common beans. *Food Reviews International*, Philadelphia, v. 9, n. 2, p. 237-297, 1993.

BROCK. 12. ed., Porto Alegre: Artmed, 2010. 1160 p.

BRUNELLI, L. T. Caracterização físico-química, energética e sensorial de hidromel (Tese Doutorado em Agronomia) UNESP- Campus de Botucatu, 2015.

CAMPOS, R. G. M. Contribuição para o estudo do mel, pólen, geleia real e própolis. *Boletim da Faculdade de Farmácia de Coimbra*, Coimbra, v. 11, n. 2, p. 17-47, 1987.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio. Lavras: UFLA, 2005. p. 783.

CONAB (2010) – Companhia Nacional de Abastecimento. Conjuntura mensal umbu (fruto), agosto de 2018. <http://>

[www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/43a36d5212768ca7a4767fa075767fa07570e\\_aad.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/43a36d5212768ca7a4767fa075767fa07570e_aad.pdf)

COSTA, F.R.B.; SILVA, M.M.A.; ARAÚJO, V.S. Uso sustentável do umbuzeiro: estratégia de convivência com o semiárido. Campina Grande: INSA, 15p.: il. 2015.

CRANE, E. O livro do mel. 2. ed. São Paulo: Nobel, 1987. 226 p.

DANTAS JÚNIOR, O. R. Qualidade e capacidade antioxidante total de frutos de genótipos de umbuzeiro oriundos do Semi-Árido nordestino. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Federal da Paraíba, Arei, 2008.

DE MELO, V. F., ARAÚJO, G. S., BISPO, J. A. C., DEL BIANCHI, V. L., de Carvalho, G. B. M. Effect of different concentrations of bush passion fruit pulp and temperature in the production of beer. African Journal of Biotechnology, v.16, n.20, p.1150-1158, 17 maio, 2017.

DOS SANTOS, A. E.; DA SILVA, E.D.; TAVARES, E., D.; CURADO, F., F.; DE SALES, J., S.; PEREIRA, L. Desempenho de Variedades Crioulas e Comerciais de Feijão-Macassar ou Feijão-Caupi no Agreste Paraibano. EMBRAPA. ISSN 1678-1937, 2016.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry, v.28, p.350-356, 1956.

DUQUE, J. G. O. Imbuzeiro. In: O Nordeste e as lavouras xerófilas. Mossoró: Fundação Guimarães Duque, 1980. p. 316-238.

DUTRA, F.V; CARDOSO, A.D; MORAIS, O. M; VIANA, A.E.S; MELO, T. L; DOS SANTOS, N. C JÚNIOR. Características físicas e químicas de acessos de umbuzeiros (Spondias tuberosa Arr. Cam) Physical and chemical characteristics of accesses of Spondias tuberosa Arr. Cam, 2017.

EMBRAPA MEIO-NORTE. Cultivo de feijão caupi. Jul, 2003. Disponível em: <<http://www.cpamn.embrapa.br/pesquisa/graos/FeijaoCaupi/referencias.htm>>. Acesso em: 8 mar. 2018.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Pesquisa investiga produção de fermentado de umbu. 2012. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2011/marco/1a-semana/pesquisa-investiga-producao-defermentado-de-umbu/?searchterm=umbu>>. Acesso em: 04 feb. 2019.

ESTEVINHO, L.; PEREIRA A.P.; MOREIRA, L.; LUÍS G. DIAS, L.G.; PEREIRA, E. Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. Food and Chemical Toxicology, Amsterdam, v. 46, p. 3774-3779, 2008.

- FARIA, J. A. F. Embalagens e conservação de mel de abelhas. Informe Agropecuário, v. 9, n. 106, p. 61-66, 1983.
- FERNÁNDEZ-TORRES, R.; PÉREZ-BERNAL, J. L.; BELLO-LÓPEZ, M. A.; CALLEJÓN-MOCHÓN, M.; JIMÉNEZ-SÁNCHEZ, J. C.; AND GUIRAÚM-PÉREZ, A. Mineral content and botanical origin of Spanish honeys. *Talanta* 65, 686–691. 2005.
- FERRAZ, F. O. Estudos dos parâmetros fermentativos, características físico-químicas e sensoriais do hidromel. Teses de Doutorado, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena- SP, 2015.
- FIDALGO, J. A revolução invisível. *Revista Nestlé Bio nutrição e saúde*. ano 6, n. 8, jun. 2013, São Paulo, ISSN 2176-8463, p. 42-45.
- FINOLA, M.S., LASAGNO, M.C., MARIOLI, J.M. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. *Food Chemistry*, 100, 1649-1653. 2007.
- FONSECA, M. R.; FERNANDES, A. R.; SILVA, G. R.; BRASIL, E. C. Teor e acúmulo de nutrientes por plantas de feijão caupi em função do fósforo e da saturação por bases. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 53, n. 2, p. 195-205, 2010.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS STATISTICS - FAO. FAOSTAT – Statistics Database. 2015. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/foostat>>. Acesso em: 01 fevereiro de 2019.
- FRANCO, M. R. B. Aroma e sabor de alimentos: temas atuais. São Paulo: Varela, 2003.
- FROTA, K.M.G.; SOARES, R.A.M.; ARÊAS, J.A.G. Composição química do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS-Milênio. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 28(2): 470-476, abr.-jun. 2008.
- GOMES, T.; BARRADAS, C.; DIAS, T.; VERDIAL, J.; MORAIS, J. S.; RAMALHOSA, E.; ESTEVINHO, E. M. Optimization of mead production using Response Surface Methodology, *Food and Chemical Toxicology*, v.59, p.680-686, 2013.
- GONDIM, P.J. Identificação de carotenoides e quantificação de compostos bioativos e atividade antioxidante em frutos do gênero *Spondias*. Areia: UFPB, 2012. 119p. Tese de doutorado.
- GUPTA, J. K.; SHARMA, R. Production technology and quality characteristics of mead and fruit-honey wines: A review. *Natural Products Radiance*, v.8, n.4, p.345-355, 2009.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de recuperação automática – SIDRA. [http:// www.ibge.gov.br/](http://www.ibge.gov.br/).2016.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4. ed. São Paulo, Instituto Adolfo Lutz, 2008.

- IQBAL, A. et al. Nutritional quality of important food legumes. *Food Chemistry*, Oxford, v. 97, n. 2, p. 331-335, 2006.
- IQBAL, A.; KHALIL, I. A.; SHAH, H. Nutritional yield and amino acid profile of rice protein as influenced by nitrogen fertilizer. *Sarhad Journal of Agriculture*, Peshawar, v. 19, n. 1, p. 127-134, 2003.
- IURLINA, M.O., FRITZ, R. Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. *International Journal of Food Microbiology*, 105,297-304. 2005.
- JOSÉ MOACIR PINHEIRO LIMA FILHO. *Ecofisiologia do Umbuzeiro (Spondias tuberosa Arr. Cam.* ISSN 1808-9992 dezembro, 2011.
- KHAN, A.A.; SAJID, M.; RAD, A. Tomato fruit quality as affected by different sources of phosphorus. *Pakistan Journal of Nutrition*, v.13, n.12, p.692-699, 2014.
- 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, n.3, p.238-242, 2009.
- KÜÇÜK, M.; KOLAILI, S.; KARAOĞLU, S.; ULUSOY, E.; BALTACI, C.; CANDAN, F. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, 100, 526-534, 2007.
- LIMA, E. D. P. de A. E; LIMA, C. A. de A.; ALDRIGUE, M. L.; GONDIM, P. J. S. Caracterização física e química dos frutos da umbu-cajazeira (*spondias spp*) em cinco estádios de maturação, da polpa congelada e néctar. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 24, n.2, Jaboticaba, 1 Ago. 2002.
- LIMA, L. R.; MARCONDES, A. A. *Alcool Carburante: Uma Estratégia Brasileira*. Curitiba: UFPR, 248p.,2002.
- LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. In: LIMA, U. A. (Coord.) *Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos*. São Paulo: Edgard Blucher, 2001.p. 1-43. (Biotecnologia Industrial; v.3).
- LMEIDA, J. R.; VALSECHI, O. *Guia de composição de frutas*. Piracicaba: USP, 1966. (USP. Boletim, 21) EPSTEIN, L. A riqueza do umbuzeiro. *Bahia Agrícola*, Salvador, v. 2, n. 3, p. 31-34, 1998.
- MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; DUNLAP, P.V.; CLARK, D.P. *Microbiologia de MAIA, F. M. M. Composição e caracterização nutricional de três cultivares de Vigna unguiculata (L.) Walp: EPACE-10, Olho de ovelha e IPA-206*. Fortaleza,. 87 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Vegetal), Universidade Federal do Ceará, 1996.
- MAIA, G. A.; OLIVEIRA, G. S. F. de O.; FIGUEIREDO, R. W. *Curso de especialização em tecnologia de processamento de sucos e polpa tropicais: matérias primas*. In: MAIA, G. A.;

- OLIVEIRA, G. S. F.; GUIMARAES, A. C. L. (Ed.). Curso de especialização por tutoria à distância. Brasília: ABEAS, v. 2, cap. 22, 1998. p. 219-224.
- MAISONNAVE, P.; SANCHEZ, I.; MOINE, V.; DEQUIN, S.; AND GALEOTE, V. Stuck fermentation: Development of a synthetic stuck wine and study of a restart procedure. *Int. J. Food Microbiol.* 163, 239–247. 2013.
- MARCHINI, L.C. Caracterização de amostras de méis de *Apis mellifera* L. 1758 (Hymenoptera: Apidae) do Estado de São Paulo, baseada em aspectos físicos-químicos e biológicos. 2001. 111f. Tese (Livre Docência) - ESALQ - USP, Piracicaba, 2001.
- MARTINEZ, E., A; MARCO, G; ALMEIDA, S., S.; JOÃO BATISTA D., E; DERENZO, S; ALMEIDA, F.; MARIA DAS GRAÇAS. Batch cooling crystallization of xylitol produced by biotechnological route. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v. 84, p. 376-381, 2009.
- MARTINS, S. T.; MELO, B.; Umbu-cajá (*Spondias* spp.). In: *Toda Fruta*, 2006. Disponível em: <http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostraconteudo.asp?conteudo=11041>>. Acesso em: 2 fev. 2019.
- MATTIETTO, R. A.; LIMA, F.C. C.; VENTURIERI, G. C.; ARAÚJO, A. A. Tecnologia para obtenção artesanal de Hidromel do tipo doce. *Embrapa*. Comunicado Técnico 170, p.1-5, 2006.
- MATTIETTO, R.A. Estudo tecnológico de um néctar misto de cajá (*Spondias lútea* L.) e umbu (*Spondias tuberosa*, Arruda Câmara). 299f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- MENCION, J. P.; VAN DER POEL; A. F. B. Process technology and antinutritional factors: principles, adequacy and process optimization. In: VAN DER POEL, A. F. B.; HUISMAN, J.; SAINI, H. S. (Eds.). *Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds*. Wageningen Pers: Wageningen, 1993, p. 419-434.
- MENDES, B. V. Umbuzeiro (*Spondias tuberosas* Arr. Cam): importante fruteira do semi-árido. Mossoró: ESAM, 63/-67p. (ESA. Coleção Mossoreense, série C, v.564). 1990.
- MENDES-FERREIRA, A., COSME, F., BARBOSA, C., FALCO, V., INÊS, A., MENDES-FAIA, A., Optimization of honey-must preparation and alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* for mead production. *International Journal of Food Microbiology*, v.144, p.193-198, 2010.
- MILESKI, J.P, F. Produção e Caracterização de hidromel utilizando diferentes cepas de leveduras *Saccharomyces*. (Dissertação, Mestrado) Londrina, 2016.
- MORS, W. B. A social function for the flora of the Cerrado and the Caatinga. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, Rio de Janeiro, v. 66, p. 85-89, 1994.

- MORSE, R. A.; STEINKRAUS, K. H. Method of making wine from honey. US Patent 3.598.607, Aug. 10, 1971.
- NASCIMENTO, C. E. de S.; ARAÚJO, F. P. de. Avaliação do umbuzeiro como porta enxerto de algumas espécies do gênero *Spondias*. Petrolina - PE. EMBRAPA-CPATSA, 1999.
- NELSON, N. A. Photometric adaptation of the Somogy method for determination of glucose. *Journal Biology Chemistry*, v.153, p.357, 1944.
- OLAITAN, P. B.; ADELEKE, O. E.; OLA, I. O. Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *African Health Sciences, Ajol*, v. 7, p. 159-165, 2007.
- ONWULIRI, A. V.; OBU, A. J. Lipids and other constituents of *Vigna unguiculata* and *Phaseolus vulgaris* grown in northern Nigéria. *Food Chemistry, Oxford*, v. 78, n. 1, p. 1-7, 2002.
- OYETADE, O.A.; OYELEKE, G.O.; ADEGOKE, B.M.; AKINTUNDE, A.O. Stability Studies on Ascorbic Acid (Vitamin C) From Different Sources. *IOSR Journal of Applied Chemistry*, v.2, n.4, p.20-24, 2012.
- PAIVA, E.G; SANTOS; DE ARAUJO, K. V.; CINTRA BRAGA, P., P.; PESSOA, T.; ALMEIDA, R. D. Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia – CONTECC – Foz do Iguaçu, Brasil 29 de agosto a 1 de setembro de 2016.
- PAULA, NETO, F. L; ALMEIDA NETO, R. M. de. Apicultura nordestina: principais mercados, riscos e oportunidades. *Serie Documentos do ETENE. Fortaleza*, n. 12, 2006. 78p.
- PEREIRA, F. B., GUIMARÃES, P. M. R., TEIXEIRA, J. A., AND DOMINGUES, L. Optimization of low-cost medium for very high gravity ethanol fermentations by *Saccharomyces cerevisiae* using statistical experimental designs. *Bioresour. Technol.* 101, 7856–7863. 2010.
- PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; CAMARGO, R. C. R.; VILELA, S. L. O. Produção de mel. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mel/SPMel/autores.htm>. Acesso em: 17 nov. 2018.
- PIRES, M. G. E. M. Estudo taxonômico e área de ocorrência de *Spondias tuberosa* an. com. (umbuzeiro) no Estado de Pernambuco–Brasil. Recife: UFRPE. (Dissertação de Mestrado). 1990.
- PRADO, D. E.; GIBBS, P. E. Patterns of species distribution in the dry seasonal forests of South America. *Annals of Missouri Botanical Garden, St. Louis*, n. 80, p. 902-927, 1993.
- PRADO, D. E.; GIBBS, P. E. Patterns of species distributions in the dry seasonal forest South America. *Annals of the Missouri Botanical Garden, Missouri*, v.80, p. 902-927, 1993.

- QUIN, F. M. Introduction. In: SING, B. B.; MOHAN RAJ, D. R.; DASHIEL, K. E.; JACKAI, L. E. N. *Advances in Cowpea Research*. Ibadan: IITA-JIRCAS, 1997. p. 9-15.
- REGODÓN, J. A.; PÉREZ, F.; VALDÉS, M. E.; MIGUEL, C. DE; RAMÍREZ, M.; *Food Microbiol.* 1997, 14, 247.
- RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia seqüencial de planejamentos. Campinas: Editora Casa do Pão, 2005. 325 p.
- SANDRA MARIA DE SOUZA E SILVA JOSEMIR M. MAIA ZUILA BRITO DE ARAÚJO FRANCISCO RODRIGUES FREIRE FILHO. *Composição Química de 45 Genótipos de Feijão-caupi (Vigna unguiculata (L.) Walp)* ISSN 0104-7646, Teresina, PI, 2002.
- SANTOS, C. A. F.; IGLESIAS, A.; FEÁS, X.; RODRIGUES, S.; SEIJAS, J.A.; VÁZQUEZ-TATO, M.P.; DIAS, L.G.; ESTEVINHO, L.M. Comprehensive study of honey with protected denomination of origin and contribution to the enhancement of legal specifications. *Molecules Basel, Basel*, v. 17, p. 8561–8577, 2012.
- SANTOS, C.A. F.; NASCIMENTO, C. E. de S.; CAMPOS, C. de O. Preservação da variabilidade genética e melhoramento do umbuzeiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal - SP, v. 21, n.2, p. 104-109, 1999.
- SANTOS, E.O. Enfoques sócio econômicos da produção, processamento e comercialização do umbu no Semiárido brasileiro. In: LEDERMAN, I.E., SILVA JUNIOR, J.F. (Org.). *Spondias no Brasil: umbu, cajá e espécies afins*. Recife – PE. Universidade Federal de Pernambuco, 2008 a. p. 174 a 180.
- SILVA, A. Q. DA SILVA, A. da. Observações morfológicas e fisiológicas sobre *Spondias tuberosa* Arr. Câm. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 25., 1974, Mossoró. *Anais...* Recife: SBB, 1974. p. 5-15.
- SILVA, C. M. M. S.; PIRES, I. E; SILVA, H. D. Caracterização dos frutos de umbuzeiro. Petrolina, PE:EMBRAPA-CPATSA, 17 p. (EMBRAPA-CPATSA. Boletim de Pesquisa, 34). 1987.
- SILVA, M. C.; ATARASSI, M. E.; FERREIRA, M. D.; MOSCA, M. A. Qualidade pós-colheita de caqui “fuyu” com utilização de diferentes concentrações de corbetura comestível. *Ciência e Agrotecnologia*. v. 35, n. 1, p. 144-151, 2011.
- SILVA, S.M.; ALVES, R.E. Desenvolvimento e fisiologia da maturação de frutos do gênero *Spondias*. In: LEDERMAN, I.E.; LIRA JÚNIOR, J.S.; SILVA JUNIOR, J.F. (Ed.) *Spondias no Brasil: umbu, cajá e espécies afins*. Recife: IPA/UFRPE, 2008. p. 23-33.
- SOARES, F.M.S. Companhia Nacional de Abastecimento. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. UMBU (fruto). Conab. Agosto, 2014.

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

SOLORD. The Mead Maker's Page. 2015. Disponível em: <<http://www.solorb.com/mead/>>. Acesso em: 21 de julho 2018.

SROKA, P; TUSZNISKI, T. Changes in oorganic acid contents durin mead wort fermentation. *Food Chemistry*, n. 104, p. 1250-1257, 2007.

WHITE, J. W. Methods for determining carbohydrates, hydroxymethylfurfural and proline in honey. *Journal of the Association of Official Analytical Chemistry*, v.62, n.3, p.515-526, 1979.

WHITE, J. W. Physical characteristics of honey. In: CRANE, E. *Honey a comprehensive survey*. London: Heinemann, cap. 6, p. 207-239, 1975.