

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DOS  
ALIMENTOS

Juciane Prois Fortes

**DESENVOLVIMENTO DE HIDROMEL GASEIFICADO NATURALMENTE**

Santa Maria, RS  
2017

Juciane Prois Fortes

## **DESENVOLVIMENTO DE HIDROMEL GASEIFICADO NATURALMENTE**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.

Orientador: Prof Dr. Cláudia Kaehler Sautter

Santa Maria, RS  
2017

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Prois Fortes, Juciane  
DESENVOLVIMENTO DE HIDROMEL GASEIFICADO NATURALMENTE  
/ Juciane Prois Fortes.- 2017.  
50 p.; 30 cm

Orientadora: Cláudia Kaehler Sautter  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-  
Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2017

1. Mel 2. Fermentação 3. Hidromel base 4. Hidromel  
Gaseificado I. Kaehler Sautter, Cláudia II. Título.

---

© 2017

Todos os direitos autorais reservados a Juciane Prois Fortes. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

E-mail: [jucianefortessm@gmail.com](mailto:jucianefortessm@gmail.com)

---

**Juciane Prois Fortes**

**DESENVOLVIMENTO DE HIDROMEL GASEIFICADO NATURALMENTE**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.

**Aprovado em 02 de março de 2017:**

---

**Cláudia Kaehler Sautter, Dr. (UFSM)**  
(Presidente/Orientador)

---

**Neidi Garcia Penna, Dr. (UFSM)**

---

**Aline de Oliveira Fogaça, Dr. (UNIFRA)**

Santa Maria, RS  
2017

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Maria – UFSM e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos pelo aprendizado, possibilitando a minha titulação.

À Profª Drª. Cláudia Kaehler Sautter, pela orientação desde minha iniciação científica, por sua paciência, dedicação, disponibilidade e confiança em meu trabalho. Obrigada pelos conhecimentos que me foram transmitidos durante este período.

Ao meu esposo André, pela compreensão, amor, motivação e apoio, por estar ao meu lado compartilhando dos momentos difíceis.

Aos meus filhos amados Murilo e Miguel, pela compreensão nos momentos em que não estive presente, e pelo amor dedicado quando juntos estávamos.

Aos meus pais Amador e Marlene pelo carinho e amor dedicados ao longo da vida.

Às minhas colegas e amigas, Fernanda Franco e Eduarda Machado pelo apoio, auxílio, aprendizados, amizade, conversas e demais momentos de descontração.

A minha IC amada Tatiane Marchesan que esteve sempre presente e disposta a me ajudar em tudo.

Aos laboratoristas Marialene, Magé e Moisés, pela ajuda com preparação de aulas práticas, empréstimo de reagentes, mas principalmente pela amizade, admiro muito vocês.

A todos os colegas do Laboratório de Bebidas, pelo companheirismo, pela boa disposição e troca de conhecimentos e o bom ambiente de trabalho proporcionado.

As minhas amigas Tatiele Casagrande, Jéssica Righi e Mariane Fagundes, pelos momentos de descontração proporcionados ao longo desses anos.

A todos que de alguma maneira, colaboraram para realização deste trabalho.

À CAPES pela bolsa de mestrado concedida.

À Deus por ter guiado e iluminado meus caminhos.

**Muito obrigada!**

## RESUMO

### DESENVOLVIMENTO DE HIDROMEL GASEIFICADO NATURALMENTE

AUTORA: Juciane Prois Fortes

ORIENTADORA: Cláudia Kaehler Sautter

O hidromel é uma bebida fermentada obtida pela diluição do mel em água com adição de nutrientes e leveduras. Em algumas regiões da Europa é uma bebida muito consumida e apreciada, no Brasil, no entanto, é pouco conhecida e explorada. O aumento pela procura de novos produtos biotecnológicos na área de alimentos, tais como o desenvolvimento de novos produtos à base de mel pode ser uma alternativa importante para o escoamento da produção e ao mesmo tempo uma interessante forma de agregar valor ao produto. O objetivo do presente estudo foi desenvolver e caracterizar um hidromel gaseificado naturalmente. Foram utilizados dois tipos de mel, sendo mel silvestre e de laranja, sendo realizada a caracterização físico-química dos méis. Os resultados da caracterização demonstraram que a matéria prima apresentava padrão de qualidade e identidade característico do mel puro de abelhas (*Apis mellifera*). Conhecendo a qualidade da matéria prima, foram elaborados três diferentes hidroméis: com mel silvestre, com mel de laranja e a combinação dos dois méis na proporção de 1:1. Os produtos finais hidromel base e hidromel gaseificado naturalmente foram caracterizados através de análises físico-químicas de compostos fenólicos e antioxidantes. Dentre os dois produtos, teores de acidez total do hidromel gaseificado apresentaram um incremento com relação ao hidromel base, onde a acidez total é levemente mais elevada com mel silvestre representando em torno de 6,9 % mais ácido do que o mel de laranja assim como a combinação de méis, assim como na acidez fixa. O consumo de açúcares totais na primeira fermentação para produção de etanol variou de 82,7 a 85,8 % e na segunda foi relativamente inferior, porém o teor alcoólico final dos dois produtos foi de 10,6 % (v/v). Os teores de extrato seco variaram de 20,18 a 25,86 g L<sup>-1</sup> definindo os hidroméis gaseificados como bebidas encorpadas. Tanto o hidromel base (179,72 a 213,77 mg EAG L<sup>-1</sup>) quanto o hidromel gaseificado (203,40 a 223,83 mg EAG L<sup>-1</sup>) apresentaram teores relevantes de polifenóis totais em sua composição. Para atividade antioxidante pelo radical ABTS o hidromel base com mel de laranja apresentou maior atividade antioxidante, porém já no hidromel gaseificado o maior teor foi encontrado para a combinação dos méis. Tendo em vista que os diferentes tipos de hidromel gaseificado obtidos no presente estudo apresentaram características físico-químicas que atenderam aos padrões de qualidade estabelecidos pela legislação para hidromel, foi realizada a avaliação sensorial das respectivas bebidas, através do teste de ordenação que não apresentou diferença significativa entre os hidroméis. O teste de aceitação demonstrou que o hidromel gaseificado de mel de laranja obteve os maiores escores, mesmo não apresentando diferença em todos os atributos. Portanto, o hidromel gaseificado naturalmente é um produto viável com boa aceitação independentemente do tipo de mel.

Palavras-chave: Mel, Fermentação, Hidromel base, Hidromel gaseificado.

## ABSTRACT

### DEVELOPMENT OF NATURALLY GASIFIED HYDROMEL

AUTHOR: Juciane Prois Fortes

ADVISOR: Cláudia Kaehler Sautter

Mead is a fermented beverage obtained by diluting honey into water with added nutrients and yeast. In some regions of Europe it is a much consumed and appreciated drink, in Brazil, however, it is little known and exploited. The increase in the demand for new biotech products in the food area, such as the development of new honey-based products, can be an important alternative to the flow of production and at the same time an interesting way of adding value to the product. The objective of the present study was to develop and characterize a naturally gaseous mead. Two types of honey were used, wild honey and orange honey, being the physical chemical characterization of the honey. The results of the characterization showed that the raw material presented a quality standard and identity characteristic of the pure honey of bees (*Apis mellifera*). Knowing the quality of the raw material, three different meads were elaborated: with wild honey, with honey of orange tree and the combination of the two honeys in the proportion of 1: 1. The final mead products mead and gassed mead naturally were characterized by physical-chemical analyzes of phenolic compounds and antioxidants. Among the two products, total acidity contents of the aerated mead presented an increase in relation to the base mead, where the total acidity is slightly higher with wild honey representing around 6.9% more acid than the orange honey as well as the combination of honeys as well as fixed acidity. The consumption of total sugars in the first fermentation for ethanol production ranged from 82.7 to 85.8% and in the second was relatively lower, but the final alcohol content of the two products was 10.6% (v / v). The dry extract contents ranged from 20.18 to 25.86 g L<sup>-1</sup> defining the gaseous mead as full-bodied beverages. Both the base mead (179.72 to 213.77 mg EAG L<sup>-1</sup>) and the gaseous mead (203.40 to 223, 83 mg EAG L<sup>-1</sup>) presented relevant contents of total polyphenols in their composition. For antioxidant activity by the ABTS radical the base mead with orange honey presented higher antioxidant activity, but already in the aerated mead the highest content was found for the combination of the honeys. Considering that the different types of gaseous mead obtained in the present study had physical chemical characteristics that met the quality standards established by the legislation for mead, a sensorial evaluation of the respective beverages was carried out, through the ordination test, which did not present a

significant difference between the meads. The acceptance test showed that the aerated mead of orange honey obtained the highest scores, even though it did not present a difference in all the attributes. Therefore, naturally metered mead is a viable product with good acceptance regardless of the type of honey.

**Key words:** Honey, Fermentation, Base mead, Gaseous mead.



## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Caracterização físico-química dos méis utilizados na produção do hidromel base.

Tabela 2 - Caracterização quanto aos teores de acidez total, volátil e fixa e pH dos hidroméis base e gaseificado.

Tabela 3 - Caracterização quanto aos teores de açúcares totais, redutores e não redutores, extrato seco reduzido e teor alcoólico no hidromel base e no hidromel gaseificado naturalmente.

Tabela 4 - Caracterização quanto ao teor de polifenóis e a atividade antioxidante do hidromel base e do hidromel gaseificado naturalmente.

Tabela 5 - Diferenças entre os pares de somatório total do teste de ordenação da preferência para os hidroméis gaseificados naturalmente.

Tabela 6 - Escores médios dos atributos sensoriais avaliados no teste de aceitação dos hidroméis gaseificados naturalmente.

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 - Classificação do mel segundo a Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000.

Figura 2 - Sequência de reações no catabolismo da glicose a piruvato e em seguida aos produtos de fermentação.

Figura 3 - Hidromel base e hidromel gaseificado naturalmente em processo fermentativo.

Figura 4 - Fluxograma de produção do hidromel base e hidromel gaseificado.

Figura 5 - Cinética fermentativa dos hidroméis base (n=6).

Figura 6 - Diferentes méis utilizados para elaboração do hidromel base e hidroméis gaseificados naturalmente.

.

## LISTA DE ABREVIATURAS

- ABTS** - Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico
- ANOVA** - Análise de variância
- ATT** - Acidez total titulável
- DPPH** - Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil
- EAG** - Equivalente de ácido gálico
- HMF** - Hidroximetilfurfural
- HCl** - Ácido clorídrico
- IBGE** - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- NaOH** - Hidróxido de sódio
- SST** - Sólidos solúveis totais
- TEAC** - Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox

## LISTA DE FÓRMULAS

- 01**- Açúcar redutor
- 02**- Açúcar não redutor em sacarose
- 03**- Acidez livre no mel
- 04**- Acidez lactônica no mel
- 05**- Acidez total no mel
- 06**- Hidroximetilfurfural no mel
- 07**- Sólidos insolúveis em água no mel
- 08**- Proporção de mel/água para o hidromel base
- 09**- Acidez total titulável
- 10**- Açúcar redutor no hidromel base e gaseificado

## SUMÁRIO

RESUMO .....	6
ABSTRACT .....	7
.....	8
LISTA DE TABELAS .....	9
LISTA DE FIGURAS .....	9
LISTA DE ABREVIATURAS.....	10
LISTA DE FÓRMULAS.....	10
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVO GERAL.....	14
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	14
3.1 CARACTERIZAÇÃO DO MEL.....	14
3.1.1 Definição .....	14
3.1.2 Composição e propriedades físico-químicas.....	15
3.1.3 Hidratos de carbono .....	16
3.1.4 Água .....	16
3.1.5 Ácidos orgânicos .....	16
3.1.6 Compostos nitrogenados .....	17
3.1.7 Parâmetros de qualidade.....	17
3.1.8 Compostos fenólicos .....	18
3.1.9. Outros compostos.....	18
3.2 HIDROMEL .....	19
3.2.1 Definição .....	19
3.2.2 Produção do hidromel .....	20
3.2.3 Processo fermentativo .....	21
4.1 AMOSTRAS.....	23
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	23
4.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS MÉIS .....	24
4.3.1 Açúcares redutores e não redutores.....	24
4.3.2 Acidez total, livre e lactônica e pH .....	25
4.3.3 Hidroximetilfurfural .....	26
4.3.4 Cinzas.....	26
4.3.5 Umidade .....	27

4.3.6 Sólidos insolúveis em água .....	27
4.3.7 Polifenóis totais .....	28
4.4 ELABORAÇÃO DO HIDROMEL BASE E DO HIDROMEL GASEIFICADO NATURALMENTE.....	28
4.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO HIDROMEL BASE E DO HIDROMEL GASEIFICADO NATURALMENTE .....	31
4.5.1 pH, acidez total, volátil e fixa .....	31
4.5.2 Açúcares totais, redutores e não redutores .....	32
4.5.3 Extrato seco .....	33
4.5.4 Teor alcoólico.....	33
4.5.5 Determinação dos compostos fenólicos .....	33
4.5.6 Capacidade antioxidante .....	34
4.6 AVALIAÇÃO SENSORIAL.....	35
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	36
6 CONCLUSÃO.....	46
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	47

## 1 INTRODUÇÃO

A agricultura brasileira tem crescido significativamente em produtividade e qualidade técnica nas últimas décadas, colocando o Brasil como um dos pólos produtores mundiais de alimentos. A produtividade deste setor e sua capacidade exportadora tem servido para fortalecer e equilibrar a balança comercial do Brasil demonstrando a importância da agricultura para a economia nacional (ABEMEL, 2014).

Dentre esses, o setor apícola vem contribuindo para geração de emprego e renda por meio de diversos produtos tais como o mel, geleia real, própolis, cera, pólen e o hidromel, sendo esses utilizados em aplicações no campo da saúde humana, ou pela capacidade polinizadora das abelhas que permite o aumento da disponibilidade de frutos e sementes para a manutenção de ecossistemas (FERRAZ, 2014; ABEMEL, 2014). Segundo dados do IBGE (2013), o estado do Rio Grande do Sul, em 2013, foi considerado o maior produtor de mel, respondendo por 20,6% do total nacional, seguido pelos estados do Paraná e Santa Catarina, com 15,7% e 13,8% de participação, respectivamente.

O consumo de mel no Brasil é maior entre as classes média e alta, ficando, segundo estimativas, entre 250 e 300 g/pessoa/ano. No país, a Região Sul apresenta o maior consumo, de mel em torno de 400g/ pessoa/ano, enquanto que na Região Nordeste o consumo seria cerca de 150g/pessoa/ano (BRASIL, 2007).

A produção de hidromel antecede o vinho e a cerveja na maioria das culturas antigas, mas é relativamente incomum hoje. O declínio em sua produção coincidiu com a propagação da viticultura na bacia do Mediterrâneo, bem como o advento de maltagem de grãos, os quais dependem de produtos fermentáveis mais baratos que o mel. Hoje, no entanto, este nicho de mercado é parcialmente impulsionado por avanços tecnológicos que eliminam alguns dos problemas inerentes à produção de hidromel comercial (WINES E VINES, 2003).

Tal prática é vista como uma alternativa para o escoamento do mel. No entanto, este, continua a ser produzido de uma forma empírica e artesanal, resultando em inúmeros problemas durante a fermentação para o apicultor de modo que mais pesquisas são necessárias para otimizar este processo de produção (PEREIRA, 2008; RAMALHOSA et al., 2011).

Frente a isso, este trabalho objetivou desenvolver um hidromel gaseificado naturalmente, agregando valor ao mel, considerando este como um produto que traz benefícios a saúde humana, e aumentando o rendimento dos apicultores através do aproveitamento de mel não escoado, transformando-o em um produto que poderá ser bastante apreciado e valorizado.

## **2 OBJETIVO GERAL**

Desenvolver, caracterizar físico-quimicamente e sensorialmente o hidromel gaseificado naturalmente.

### **2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Caracterizar físico-quimicamente o mel.
- Desenvolver um hidromel gaseificado naturalmente a partir do hidromel base em escala laboratorial.
- Comparar o padrão de identidade e qualidade do hidromel base e do hidromel gaseificado naturalmente.
- Quantificar o teor de compostos fenólicos no mel, hidromel base e hidromel gaseificado naturalmente, além da capacidade antioxidante do hidromel base e gaseificado.
- Analisar sensorialmente o hidromel gaseificado naturalmente.

## **3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **3.1 CARACTERIZAÇÃO DO MEL**

#### **3.1.1 Definição**

De acordo com a Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000 (BRASIL, 2000), entende-se por mel, o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colmeia.

Os principais tipos de mel podem ser classificados de três formas, quanto a: sua origem, seu procedimento de obtenção e sua apresentação e/ou processamento (Figura 1)

Figura 1 - Classificação do mel segundo a Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000

Origem	Mel floral	Obtido dos néctares das flores.
	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.
Procedimento de obtenção	Mel escorrido	Obtido por escorrimento dos favos desoperculados, sem larvas.
	Mel prensado	Obtido por prensagem dos favos, sem larvas.
	Mel centrifugado	Obtido por centrifugação dos favos desoperculados, sem larvas.
Apresentação e/ou processamento	Estado	Líquido
		Cristalizado
		Parcialmente cristalizado
		Mel em favos ou em secções
		Mel com pedaços de favo
		Mel cristalizado ou granulado
		Mel cremoso
Mel filtrado		

Fonte: BRASIL, 2000.

O mel é composto por 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 (BRASIL, 2000).

### 3.1.2 Composição e propriedades físico-químicas

A composição do mel é variável e depende de fatores como a fonte floral, o clima, as condições ambientais e sazonais, bem como o manuseio e o processamento. O mel tem em sua composição cerca de 200 substâncias, sendo as principais os hidratos de carbono, além de minerais, proteínas, vitaminas, lipídios, ácidos orgânicos, aminoácidos, compostos fenólicos, enzimas e outros fitoquímicos (PEREIRA, 2008).

A qualidade do mel é determinada pelas suas propriedades sensoriais, físicas e químicas. Essas dependem do néctar e pólen da fonte floral, da cor, do aroma, da umidade e do conteúdo em proteínas e açúcares (AZEREDO et al., 2003). Estas propriedades são avaliadas através de parâmetros estabelecidos na Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000 (BRASIL, 2000), e incluem umidade, teor de açúcares redutores, teor de sacarose, teor de matérias insolúveis em água, teor de minerais, acidez, teor de hidroximetilfurfural (HMF) e índice diastásico.

### 3.1.3 Hidratos de carbono

Os hidratos de carbono são os constituintes majoritários do mel. Correspondem a cerca de 95 a 99% da matéria seca, sendo essencialmente a frutose (38,4%), a glicose (30,3%) e a sacarose (1,3%). Os outros hidratos de carbono que constituem cerca de 12%, e incluem dissacarídeos, como maltose e isomaltose, trissacarídeos e tetrassacarídeos (PEREIRA, 2008)

Os açúcares redutores, glicose e frutose, são os constituintes majoritários do mel, sendo o teor mínimo permitido na legislação brasileira de 65g 100 g<sup>-1</sup> de mel (BRASIL, 2000). A proporção de frutose em relação à glicose depende bastante da fonte de néctar, sendo, geralmente a proporção de frutose:glicose (1,2 : 1). Esta proporção pode influenciar diretamente as características sensoriais do mel, pois a frutose é mais doce que a glicose, como a sua granulação, uma vez que a glicose é menos solúvel em água que a frutose. Assim, os méis com razões frutose / glicose superiores permanecem líquidos durante períodos maiores (DE RODRÍGUEZ et al., 2004; FINOLA et al., 2007).

Um conteúdo elevado de sacarose aparente no mel pode significar um mel verde, já que a sacarose ainda não foi totalmente transformada em glicose e frutose, pela ação da enzima invertase, secretada pelas abelhas, além de poder indicar uma adulteração do mel (SODRÉ et al., 2007). Para este parâmetro, o valor máximo permitido no mel é 6 g 100 g<sup>-1</sup> de mel (BRASIL 2000).

### 3.1.4 Água

A água é o segundo constituinte em maior quantidade no mel, variando antes da completa desidratação entre 15 e 20% do conteúdo total dependendo do clima, origem floral e condições de colheita. Normalmente o mel maduro tem menos de 18,6% de umidade, tendo uma grande relação com a fermentação, já que quando encontrada acima do limite máximo de 20%, o mel estará sujeito a fermentação (FINOLA et al., 2007; SODRÉ, 2005; BRASIL, 2000).

### 3.1.5 Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos constituem 0,57% do mel onde o majoritário é o ácido glucônico, que é um produto da digestão enzimática da glicose, seguido dos ácidos pirúvico, málico, cítrico, succínico e fumárico. Os ácidos orgânicos são responsáveis pela acidez do mel e



contribuem largamente para a seu sabor característico (OLAITAN, ADEKEKE e OLA, 2007; ANKLAM, 1998).

Valores de acidez abaixo do limite máximo estabelecido, 50 miliequivalentes de ácidos por 1000 gramas de mel (BRASIL 2000), indicam a ausência de fermentações indesejáveis (FINOLA et al., 2007), sendo que a presença de leveduras xerotolerantes pode ser responsável pelo aumento da sua acidez. A variação na acidez do mel pode ser atribuída à época de colheita (DE RODRÍGUEZ et al., 2004)

### **3.1.6 Compostos nitrogenados**

Os compostos nitrogenados estão presentes no mel, dentre as quais as enzimas originárias da secreção salivar das abelhas. Eles têm papel importante na formação do mel (DE RODRIGUEZ et al., 2004). O conteúdo de proteínas do mel é aproximadamente 0,2%, provenientes das abelhas e das plantas. Uma pequena fração das proteínas são enzimas, nas quais se incluem a invertase (EC 3.2.1.26), diastase, glucose oxidase (EC 1.1.3.4), catalase (EC 1.11.1.6),  $\alpha$ -glucosidase (EC 3.2.1.20),  $\beta$ -glucosidase (EC 3.2.1.21) e amilase (EC 3.2.1.1). A atividade enzimática do mel pode indicar sua exposição ao calor durante o processamento e armazenamento, variando entre amostras de mel devido as abelhas adicionarem diferentes quantidades de saliva, levando em consideração as condições climáticas (PEREIRA, 2008).

A quantidade de nitrogênio no mel é baixa e variável, sendo o valor médio cerca de 0,04%. Relativamente aos aminoácidos, a prolina é majoritária, mas também contém arginina, triptofano e cisteína, cuja presença é característica em alguns tipos de mel. A análise do perfil de aminoácidos é mais adequada para a detecção da origem botânica e geográfica do mel do que a composição proteica (ANKLAM, 1998).

### **3.1.7 Parâmetros de qualidade**

O índice diastásico (conferido pela ação enzimática) e o teor em HMF (oriundo do aquecimento ou armazenamento em altas temperaturas) são parâmetros indicadores do frescor do mel (DE RODRÍGUEZ et al., 2004).

O hidroximetilfurfural pode ser formado pela ação de alguns açúcares com ácidos ou pela reação de Maillard. O aquecimento, a temperatura e o tempo de armazenamento podem aumentar o nível de HMF. Um mel de elevada qualidade deverá ter um índice diastásico elevado e um teor de HMF baixo. O índice diastásico está também intimamente relacionado com o

tratamento térmico do mel, não sendo um parâmetro adequado para detectar a sua origem (ANKLAM, 1998; SODRÉ, 2005). Os limites estabelecidos segundo a legislação brasileira para estes dois parâmetros são um mínimo de 8 na escala Göthe, para o índice diastásico e um máximo de 60 mg kg<sup>-1</sup> para HMF (BRASIL, 2000).

### 3.1.8 Compostos fenólicos

O mel contém, ainda, uma enorme variedade de compostos fenólicos, como constituintes secundários. Os principais flavonóides presentes no mel são miricetina, tricetina, quercetina, hesperatina, luteolina, caempferol, pinocembrina, crisina, pinobanksina, genkvanina e galangina (ANKLAM, 1998).

Os compostos fenólicos principais presentes no mel são *p* ácido-hydroxibenzoico, ácido cinâmico, naringenina, pinocembrina e crisina. São compostos com potencial antioxidante, dependentes da concentração de extrato de mel, sendo que méis mais escuros tem atividade maior do que méis claros (ESTEVINHO et al., 2008). Para méis de determinadas origens botânicas (mel de urze, mel de citrinos, mel de girassol, etc.) é possível determinar padrões de flavonóides característicos, que podem ser usados na determinação da sua origem geográfica (ANKLAM, 1998).

### 3.1.9. Outros compostos

No mel foram também identificadas vitaminas C, B (tiamina) e do complexo B2, como riboflavina, ácido nicotínico e ácido pantotênico (OLAITAN et al., 2007).

O teor de matérias insolúveis em água é um método importante para detectar impurezas no mel, as quais não podem exceder o máximo permitido pela legislação, de 0,1 g 100 g<sup>-1</sup> de mel, com exceção do mel prensado que tolera 0,5 g 100 g<sup>-1</sup> (BRASIL, 2000).

Os minerais se encontram em pequenas quantidades no mel, e o seu conteúdo varia entre 0,04% nos méis claros e 0,2% em alguns méis escuros, sendo o potássio o mais abundante. O conteúdo em minerais no mel pode fornecer informações sobre a ocorrência de poluição ambiental ou sobre a origem geográfica do mel (ANKLAM, 1998). Para determinar o conteúdo de minerais no mel é necessário a determinação de cinzas, que normalmente apresenta um teor bastante baixo. Valores elevados do teor de cinzas entre amostras de mel, podem indicar que o

processo de recolha e/ou as técnicas utilizadas pelos produtores não são uniformes (FINOLA et al., 2007).

## 3.2 HIDROMEL

### 3.2.1 Definição

É uma das bebidas mais antigas consumidas pelo homem, talvez mesmo antes do vinho e é provavelmente o precursor da cerveja. Antigamente o seu consumo era mais difundido, estando ligado a datas comemorativas e rituais religiosos. Mas o desenvolvimento das civilizações e dos recursos agrícolas desencadeou a substituição do hidromel por outras bebidas como o vinho e a cerveja (BERTELLO, 2001).

De acordo com a Instrução Normativa nº 64 de abril de 2008 (BRASIL, 2008), anexo III, que regulamenta os padrões de identidade e qualidade para hidromel, o termo hidromel é usado para designar a bebida com graduação alcoólica entre 4% e 14% em volume a 20°C, obtida pela fermentação alcoólica de uma solução de mel de abelha, sais nutrientes e água potável.

O hidromel pode ser classificado no que diz respeito a quantidade de mel adicionado ao mosto como seco e suave ao paladar, similar aos vinhos tradicionais ou ainda classificado como doce e encorpado. Pode-se também permitir que a fermentação continue após o engarrafamento e assim se obter um hidromel similar aos vinhos espumantes (GUPTA, SHARMA, 2009).

No norte Europeu, região onde a vinha não encontrava as condições necessárias para o seu desenvolvimento, o consumo de hidromel foi bastante popular até o vinho ser importado a baixo custo de regiões do sul. Na atualidade o hidromel ainda é consumido em alguns países, tais como Inglaterra, Polónia, Alemanha, Eslovênia e sobretudo em países africanos, como a Etiópia e África do Sul. Em Portugal, o hidromel é produzido de uma forma artesanal, e os produtores e apicultores, tal como em outros países, deparam-se com inúmeros problemas durante a sua produção (BERTELLO, 2001; PEREIRA, 2008).

A literatura reporta poucos estudos sobre a produção de hidromel, isso demonstra a necessidade na realização de novas pesquisas que visem a padronização dos parâmetros essenciais para a obtenção de um produto com qualidade. O decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, traz todas as normas necessárias para a regulamentação do hidromel no Brasil. Entretanto

os produtores dessa bebida, relatam ser um processo oneroso e acabam ficando na informalidade.

### 3.2.2 Produção do hidromel

Os mostos de hidromel (mel + água) são caracterizados pelo pH baixo e por uma combinação de ácidos que têm origem no mel, os quais podem influenciar a taxa de fermentação. A taxa de fermentação do hidromel depende, sobretudo, da variedade do mel, da estirpe da levedura, da composição do meio de cultura e do pH extracelular (NAVRÁTIL, STURDÍK e GEMEINER, 2001, RAMALHOSA et al., 2011).

Os atrasos e problemas do processo fermentativo são uma das principais dificuldades na produção de hidromel, devido aos baixos níveis de substâncias nitrogenadas e minerais presentes no mel, indispensáveis para a multiplicação das leveduras e ao pH ácido do caldo fermentativo que afeta a evolução do processo. Assim a identificação e eliminação dos fatores que diminuem a atividade celular podem tornar o processo de produção mais rápido, reduzindo, assim, os custos de produção (NAVRÁTIL, STURDÍK e GEMEINER, 2001; PEREIRA, 2008).

As leveduras usadas na produção de hidromel são normalmente, as estirpes utilizadas na produção de vinho, cerveja e champanhe. Atualmente, existem diversas estirpes diferentes de leveduras enológicas, que são majoritariamente de *Saccharomyces cerevisiae*. No entanto, a maior parte destas leveduras enológicas não estão adaptadas às condições presentes no mosto de mel, como os níveis de açúcar elevados, valores de pH baixos e concentrações reduzidas de azoto (PEREIRA, 2008).

De todos os nutrientes assimilados pelas leveduras durante a fermentação, os compostos azotados, são quantitativamente os mais importantes, depois dos compostos carbonados, pois são essenciais para o crescimento e metabolismo das leveduras (CASELLAS, 2005).

Outro problema relacionado com a produção de hidromel é a falta de uniformidade do produto final. Como o conteúdo de água do mel é variável de ano para ano, a quantidade de água a adicionar ao mel tem que ser ajustada, de modo a obter um teor alcoólico uniforme no produto final. Porém, como atualmente o hidromel é feito de uma forma bastante artesanal, não é feito este ajuste, obtendo-se bebidas muito diferentes (PEREIRA, 2008).

Com o objetivo de determinar o meio ideal de fermentação, Mendes-Ferreira et al. (2010) prepararam um mosto a partir da diluição de mel com água potável em uma proporção

de 37 g 100 mL<sup>-1</sup>, e a mistura homogeneizada apresentou 22,2 °Brix, o que tem potencial para se obter hidromel com aproximadamente 11% de álcool. Os autores avaliaram os parâmetros de pH, sólidos solúveis totais (SST), acidez total e concentração de nitrogênio assimilável. Os parâmetros foram ajustados pela adição de ácido málico, tartarato de potássio e fosfato de amônio em diferentes proporções. A taxa de inoculação foi de 10<sup>5</sup> UFC mL<sup>-1</sup> e temperatura de fermentação de 22°C em ambiente anaeróbio. Ainda para avaliar a composição aromática do hidromel e verificar a influência das condições de fermentação nas características sensoriais, os autores, realizaram a identificação e quantificação de dezesseis compostos aromáticos produzidos durante o processo de fermentação.

Pereira et al. (2009) realizaram estudo para avaliar o uso de leveduras selecionadas na preparação de hidromel, submetendo cepas de leveduras a condições de estresse em diferentes níveis de etanol (5 a 20%). Observaram também a resistência das leveduras ao dióxido de enxofre em diferentes concentrações (100, 250 e 500 mg L<sup>-1</sup>), e induziram ao choque osmótico as leveduras expostas a meio contendo 40% de açúcares. As leveduras selecionadas foram comparadas com as leveduras não submetidas ao estresse, utilizando dois tipos diferentes de méis, um claro, pobre em minerais e um escuro, rico em nutrientes. Após o acompanhamento do processo fermentativo e a caracterização dos hidroméis, os autores chegaram à conclusão que, a qualidade do mel, o preparo do mosto e a suplementação com nutrientes são as variáveis mais importantes na produção de hidromel.

### 3.2.3 Processo fermentativo

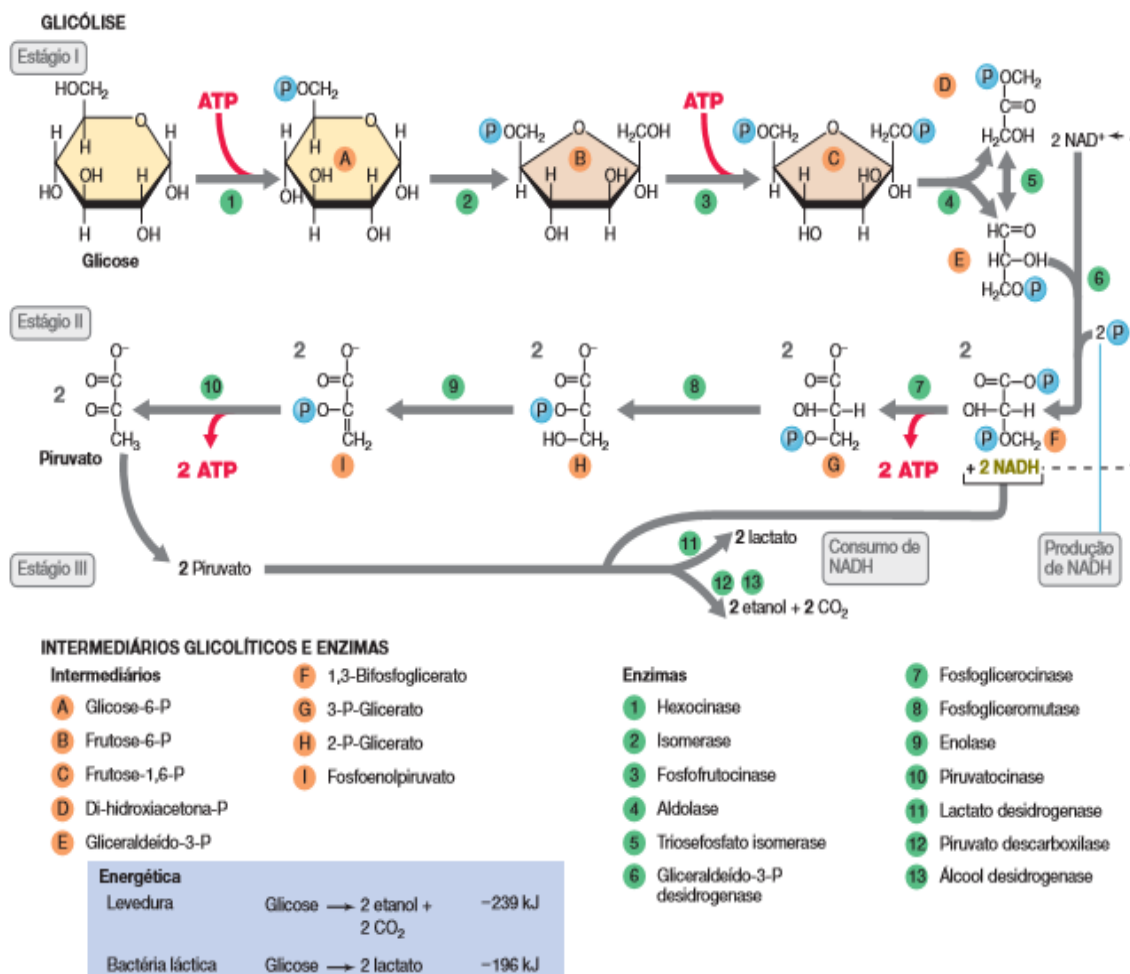
Devido ao elevado teor de açúcares no mel, o processo fermentativo é bastante demorado, sendo a variedade do mel, a estirpe da levedura, os nutrientes disponíveis e o pH do meio (NAVRÁTIL et al., 2001), variáveis importantes que afetam a produção e qualidade do produto final.

Na fermentação alcoólica de açúcares por ação de leveduras, os principais produtos obtidos são o etanol e o dióxido de carbono (Figura 2). O processo de conversão que ocorre dentro da célula é dividido em duas etapas: na primeira etapa ocorre a conversão do monossacarídeo em ácido pirúvico, através de uma sequência de reações enzimáticas, sendo esta etapa conhecida como glicólise. A segunda etapa acontece a partir do ácido pirúvico, em condições de anaerobiose, ocorrendo a fermentação alcoólica propriamente dita, que dá origem ao etanol (MADIGAN et al., 2010). Esse mecanismo foi quantificado pela primeira vez por

Gay-Lussac, que concluiu que 100 kg de glicose rendem 51,1 kg de etanol e 48,9 kg de dióxido de carbono. O rendimento teórico de 51,1% em massa é conhecido como coeficiente de Gay-Lussac e é o dado básico na eficiência de conversão (JACKMAN, BU'LOK, KRISTIANSEN, 1991).

Os atrasos e problemas nas fermentações, bem como a produção de sabores indesejados, são alguns dos problemas encontrados na produção de hidromel, normalmente associados com a incapacidade de resposta das leveduras para se adaptar às condições de stress desfavoráveis ao seu crescimento. Além da qualidade da matéria prima, pH, temperatura, teor de açúcares e disponibilidade de nutrientes, a taxa de inoculação das leveduras é fundamental no processo de obtenção de hidromel (MILESKI, 2016).

Figura 2 Sequência de reações no catabolismo de glicose a piruvato e em seguida aos produtos de fermentação.



Fonte: MADIGAN et al., 2016.

A produção de hidromel iniciou através da fermentação alcoólica resultante do crescimento de microrganismos selvagens, naturalmente presentes no mel. Nestes casos, a fermentação alcoólica era imprevisível e, muitas vezes, tornava o hidromel intragável pela presença de leveduras contaminantes e de bactérias que alteravam as propriedades sensoriais. Recentemente, cepas selecionadas e leveduras comerciais têm sido usadas para reduzir os riscos de contaminação visando um maior controle durante o processo fermentativo de forma a obter um produto padrão (MENDES-FERREIRA et al., 2010). A levedura da estirpe *Saccharomyces cerevisiae*, utilizada na produção de vinho, espumante e de cerveja, tem sido utilizada com sucesso na produção de hidromel (PEREIRA et al., 2009, MENDES-FERREIRA et al., 2010).

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 AMOSTRAS**

Para elaboração do fermentado alcoólico gaseificado naturalmente de mel foram utilizados méis de laranjeira e silvestre, sendo o mel silvestre adquirido do apiário Padre Assis localizado em Santiago na região central do Rio Grande do Sul. Estando a uma altitude de 467 metros, possui uma área de 2.413,075 km<sup>2</sup>, sendo o clima do município classificado como subtropical úmido, com temperatura média anual de entre 18 e 20°C e a pluviosidade média anual de 359 mm. O mel de laranjeira foi adquirido do apiário Lambertucci de Rio Claro, cidade localizada na região centro leste do Estado de São Paulo, possuindo uma área total de 498,422 km<sup>2</sup>, com o clima do município classificado como tropical de altitude, sendo a temperatura média anual de 20,3°C e a pluviosidade média anual é 1294 mm (IBGE, 2010).

### **4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL**

O experimento foi totalmente casualizado com três tratamentos de hidromel gaseificado naturalmente (mel silvestre 100%, mel de laranjeira 100% e mel com a mistura dos méis silvestre 50% e de laranjeira 50%) e seis repetições.

### 4.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS MÉIS

As determinações realizadas no mel consistiram em açúcares redutores e não redutores, pH, acidez total, livre e lactônica, HMF, cinzas, umidade, sólidos insolúveis em água e polifenóis totais.

#### 4.3.1 Açúcares redutores e não redutores

O mel é um composto concentrado de açúcares com predominância de glicose e frutose, e a determinação dessas propriedades é feita para detectar a quantidade desses açúcares presentes na amostra e também verificar possíveis adulterações que possam alterar a qualidade do produto final. A metodologia utilizada para a determinação de açúcares redutores seguiu metodologia descrita por Lane & Eynon com adaptações feitas pelo IAL (2008). Pesou-se 3 g da amostra homogeneizada de mel em um béquer de 25 mL. Diluiu-se com água destilada e transferiu-se para um balão volumétrico de 200 mL, completando com água. Pipetou-se 50 mL da solução de mel para um balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água. Em um erlenmeyer de 250 mL, pipetou-se 5 mL da solução de Fehling A padronizada (69,28 g de sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), em 1000 mL de água destilada). e 5 mL da solução Fehling B padronizada (346 g de tartarato duplo de sódio e potássio -  $\text{KNa}(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6) \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  e 100 g de hidróxido de sódio, em balão de 1000 mL). Em bureta de 25 mL, colocou-se a solução de mel diluída. A solução de Fehling foi colocada em chapa de aquecimento até entrar em ebulição, então adicionou-se a essa solução 5 gotas de solução de azul de metileno, e procedeu-se a titulação até descoloração do indicador e formação de um precipitado vermelho tijolo no fundo do erlenmeyer (não podendo exceder o tempo de 3 minutos para completar a titulação), anotou-se o volume gasto da solução de mel. A equação utilizada no cálculo foi:

$$y = (2 * 1000/P * V) \quad (01)$$

Onde: P = Peso da amostra em gramas e V = Volume da solução de mel gasta na titulação. Chegando ao teor de açúcares redutores de gramas por 100 gramas de mel ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ ).

Após determinação dos açúcares redutores procedeu-se a determinação dos açúcares não redutores em sacarose. Pipetou-se 20 mL da solução de mel obtida na determinação de açúcares redutores para um balão volumétrico de 100 mL, adicionou-se 30 mL de água destilada e 2 mL de ácido clorídrico. Essa solução foi aquecida a 60 °C em banho-maria por 60 minutos,



e após a solução atingir temperatura ambiente, foi neutralizada com solução de hidróxido de sódio 20%, usando papel indicador de pH, completou-se o balão com água, e procedeu-se a titulação como descrito para açúcares redutores. E os resultados dados pela seguinte equação:

$$y = (2 * 1000/P * V_1) - C) * 0,95 \quad (02)$$

Onde: P = peso da amostra em gramas;  $V_1$  = valor em mL da solução de amostra gasta na titulação; C = Valor de açúcar redutor obtido para a amostra, e os resultados foram expressos em gramas por 100 gramas de mel ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ ).

#### 4.3.2 Acidez total, livre e lactônica e pH

Este método baseia-se na determinação da acidez livre, lactônica e total pelo IAL (2008). Fez-se a calibração do pHmetro conforme as instruções do fabricante, com as soluções tampão 4 e 7. Pesou-se 10 g da amostra de mel em um béquer de 250 mL, posteriormente sendo diluído com 75 mL de água destilada, agitou-se com agitador magnético e através do eletrodo do pHmetro na solução, foi observado e anotado o pH da amostra. Após isso procedeu-se a titulação com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N até pH 8,5 e anotou-se o volume gasto. Imediatamente, foi adicionada nesta solução 10 mL de solução de hidróxido de sódio 0,1 N e, fez-se a titulação com solução de ácido clorídrico (HCl) 0,05 N até o pH 8,30, anotando-se o volume gasto. Para o branco titulou-se 75 mL de água com NaOH 0,1 N até pH 8,5. Os cálculos para determinação dos teores de acidez são:

$$\textit{Acidez Livre:} \quad y = ((V - V_b) * 50 * f * P) \quad (03)$$

$$\textit{Acidez Lactônica:} \quad y = ((10 - V_a) * 50 * f' / P) \quad (04)$$

$$\textit{Acidez Total:} \quad \textit{Acidez Livre} + \textit{Acidez Lactônica} \quad (05)$$

Onde: V = n° de mL da solução de NaOH 0,1 N gasto na titulação;  $V_b$  = n.º de mL de solução de NaOH 0,1 N gasto na titulação para o branco; f = fator da solução de NaOH 0,1 N; P = massa da amostra em g;  $V_a$  = n° de mL de solução de HCl 0,05 N gasto na titulação;  $f'$  = fator da

solução de HCl 0,05 N, P = massa da amostra em g, e os resultados de acidez foram expressos em miliequivalentes por quilograma da amostra (meq Kg<sup>-1</sup>).

### 4.3.3 Hidroximetilfurfural

A análise de HMF é feita no mel para verificar possível adulteração com açúcar comercial, estocagem inadequada ou superaquecimento. A determinação seguiu a metodologia IAL (2008), onde foi pesado 5g de cada amostra de mel em béquer identificado, dilui-se com 25 mL de água e transferiu-se para um balão de 50 mL. Posteriormente, adicionou-se 0,5 mL da solução de Carrez I (15g de K<sub>4</sub> [ Fe (CN)<sub>6</sub> ] 3H<sub>2</sub>O em 100 mL de H<sub>2</sub>O) e agitou-se; na sequência o mesmo foi feito com a solução de Carrez II (30g de Zn (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O em 100 mL de H<sub>2</sub>O) sendo completado o volume com água destilada. As amostras foram filtradas descartando-se os primeiros 10mL. Pipetaram-se 5 mL do filtrado em dois tubos de ensaio, adicionando-se, no primeiro, 5 mL de água, e no segundo, 5 mL de solução de bissulfito de sódio (0,20g de NaHSO<sub>3</sub> em 100 mL de H<sub>2</sub>O) como referência. Mediu-se a absorbância das amostras, utilizando um espectrofotômetro nos comprimentos de onda na faixa do ultravioleta de 284 nm e 336 nm. Para o cálculo da quantidade de HMF, utilizou-se a seguinte equação:

$$y = (A_{284} - A_{336}) * 149,7 * 5 / P \quad (06)$$

Onde: A<sub>284</sub> = leitura da absorbância a 284 nm; A<sub>336</sub> = leitura da absorbância a 336 nm; P = peso da amostra em g; 5 = massa nominal da amostra; 149,7 = peso molecular do HMF, os resultados foram expressos em HMF mg kg<sup>-1</sup>.

### 4.3.4 Cinzas

Segundo IAL (2008), resíduo por incineração ou cinzas é o nome dado ao resíduo obtido por aquecimento de um produto em temperatura próxima a 550-570°C. Para determinação do teor de cinzas contido nas amostras de mel seguiu-se a metodologia descrita por IAL (2008) com algumas adaptações. Foi realizada a incineração dos cadinhos de porcelana por 3 horas em mufla a 550°C, desligou-se a mufla e deixou-se esfriar antes de abrir, devido ao alto calor dentro do equipamento. Após esta etapa, esses ficaram em dessecadores até atingir temperatura ambiente e foram pesados, anotou-se o peso. Foi adicionado 3 g da amostra de mel no cadinho previamente tarado e anotou-se o peso. Posteriormente a isso, foram levados para estufa a 105°C

por 24 horas para reduzir o teor de umidade e evitar perda da amostra no momento da incineração. Após esse tempo os cadinhos foram levados para a mufla a 550°C por 5 horas, sendo resfriados depois desta etapa até temperatura ambiente, e pesados novamente, repetindo-se o aquecimento e resfriamento até peso constante. O teor de cinzas na amostra foi determinado da seguinte forma, o peso final do cadinho mais amostra foi subtraído do peso inicial do cadinho vazio, obtendo assim o percentual de cinzas nas amostras de mel.

#### **4.3.5 Umidade**

A análise de umidade tem por objetivo determinar se o índice desse elemento está abaixo do determinado pela legislação, para evitar possíveis fermentações indesejadas que possam alterar a qualidade do mel. O método baseia-se na determinação da umidade por refratometria segundo IAL (2008). Utilizou-se o refratômetro de Abbé com circulação de água à temperatura constante de 20°C pelo aparelho, por tempo suficiente para equilibrar a temperatura do prisma e da amostra e manteve-se a água circulando durante a leitura, verificando constantemente a temperatura. Transferiu-se 3 gotas da amostra de mel para o prisma do refratômetro e fez-se leitura do índice de refração a 20°C. Através desse índice, pela tabela de Chataway, chegou-se ao teor de umidade presente nas amostras.

#### **4.3.6 Sólidos insolúveis em água**

A análise de sólidos insolúveis em água fundamenta-se em determinar a insolubilidade em água da cera, grãos de pólen e outros componentes do sedimento do mel. A metodologia utilizada foi descrita por Moretto et al. (2008). Pesou-se 50 g de mel em béquer de 400 mL, e posteriormente foi diluído em 200 mL de água fervente e mantido em ebulição por 20 minutos. Foi então filtrado em papel filtro previamente lavado com 800 mL de água fervente, seco em estufa (105 °C) por 1 hora e pesado. Após foi eliminado o excesso de água e levado a estufa (105 °C) até atingir peso constante. O resultado é dado pela seguinte equação:

$$M = 100 * N/P \quad (07)$$

Onde: N = Massa do filtro com resíduo – massa do filtro seco e P = peso da amostra, o resultado é expresso em porcentagem (%) de sólidos insolúveis em água.

#### 4.3.7 Polifenóis totais

A quantificação dos compostos fenólicos presente em cada amostra de mel, seguiu a metodologia descrita por Singleton e Rossi (1965). As amostras do mel foram diluídas na proporção de 1:10 m/v em solução extratora alcoólica acidificada (etanol, água e HCl, 70:30:1). Foi pipetado para outro tubo, 200 µL da amostra diluída, na qual adicionou-se 1000 µL do reagente de Folin-Ciocauteu (1:10 H<sub>2</sub>O) sendo adicionado na sequência 800 µL de carbonato de sódio (NaCO<sub>2</sub>) 7,5%.

As leituras das amostras foram realizadas em triplicata das absorbâncias em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO<sup>®</sup> 600 plus) em comprimento de onda de 765 nm, após terem permanecido em repouso por duas horas em temperatura ambiente. O cálculo do teor de compostos fenólicos foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra a curva de calibração constituída com padrão de ácido gálico, nas concentrações de 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 e 80 mg L<sup>-1</sup>. Os resultados foram expressos em mg de EAG (equivalente de ácido gálico) por litro de fermentado (mg EAG L<sup>-1</sup>). A equação da curva de calibração do ácido gálico foi  $Y = 136,2 X - 4,3422$ , onde Y é a concentração de ácido gálico e X é a absorbância a 765 nm, o coeficiente de correlação da curva analítica foi de  $R^2 = 0,9984$ .

#### 4.4 ELABORAÇÃO DO HIDROMEL BASE E DO HIDROMEL GASEIFICADO NATURALMENTE

Considerando que o mel contém cerca de 80% de açúcares em condições de fermentação, e que 20g de açúcar fermentescível produzem um teor alcoólico de 1° por litro de mosto (ILHA et al., 2008), a proporção de mel/água calculada seguiu a seguinte fórmula:

$$y = (20 * x * 100)/80 \quad (08)$$

Onde: y = quantidade de mel (g L<sup>-1</sup>); x= teor alcoólico final.

O mosto foi preparado com mel e água através da fórmula descrita acima e todos os tratamentos estabilizaram em 21 °Brix, após foram adicionadas 4 g L<sup>-1</sup> de levedura Zimaflor X5 da Laffort<sup>®</sup> e procedeu-se a homogeneização do mosto hidromeleiro e posterior fermentação (Figura 4). A fermentação foi conduzida em fermentadores de polietileno com volume total de

2 litros (Figura 3 A), o sistema foi mantido em anaerobiose e em temperatura constante de 25°C e acompanhado diariamente através de medições do teor de SST em °Brix.

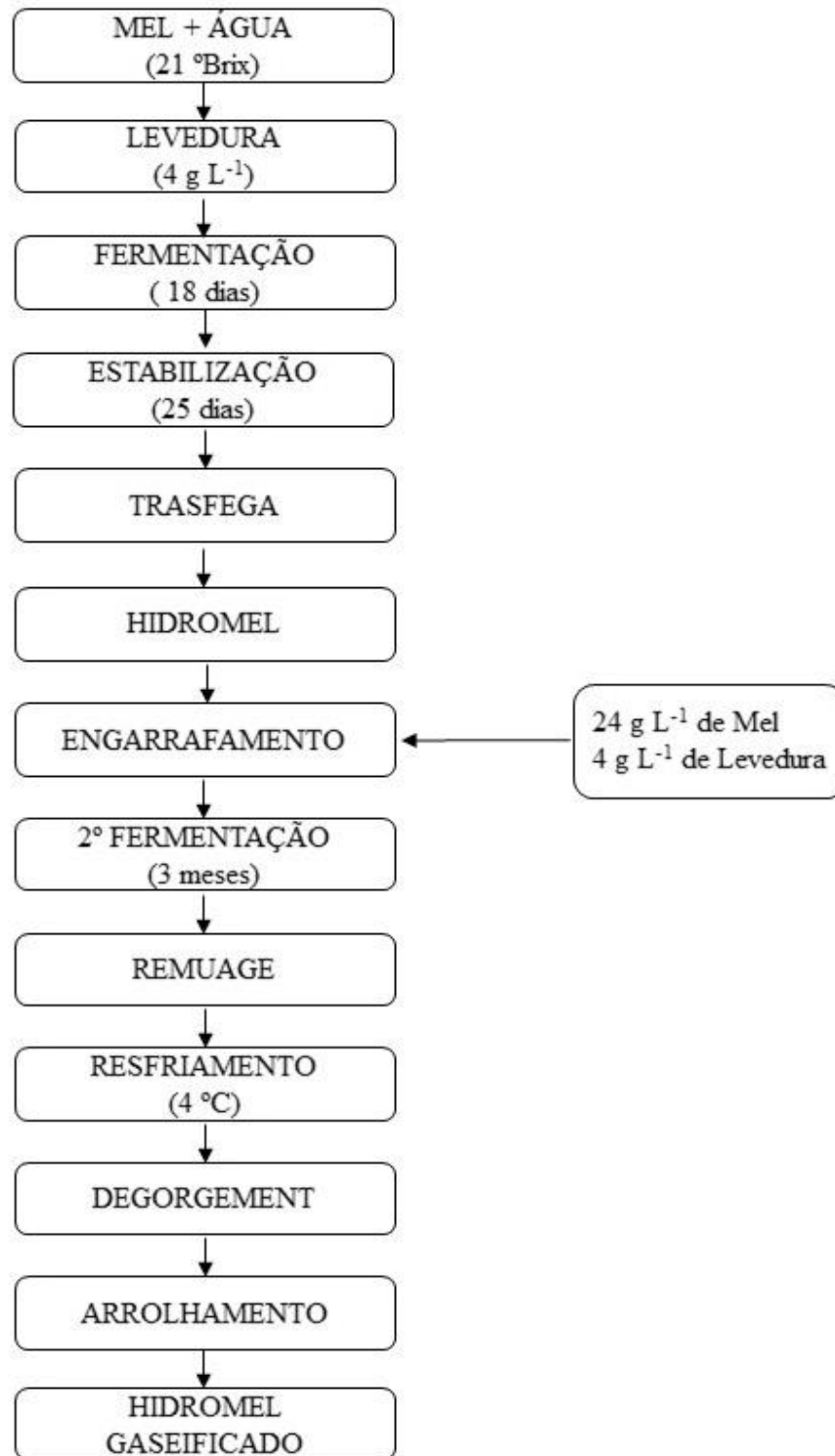
Figura 3 Hidromel base e hidromel gaseificado naturalmente em processo fermentativo.



Fonte: Arquivo pessoal da autora

O cessar do desprendimento de gás carbônico seguido da estabilização do SST, indicou o final do processo de fermentação. O hidromel passou por processo de clarificação onde foi feita a redução na temperatura para 16°C por 25 dias. Após foi trasfegado para garrafas de vidro próprias para a produção de vinhos espumantes e adicionadas 24g L<sup>-1</sup> de mel e 4 g L<sup>-1</sup> de levedura para o processo de fermentação secundária, que teve como objetivo a produção de gás carbônico na proporção de até 6 atmosferas por litro, visando a gaseificação do hidromel (Figura 3 B), essa segunda fermentação na garrafa se deu pelo tempo de três meses, onde nos primeiros 60 dias as garrafas permaneceram em posição horizontal e após esse período, a posição das garrafas foi modificada para o sentido vertical, e essas passaram pelo processo de remuage diário, com o objetivo de que todos os sedimentos de levedura presentes no interior da garrafa se depositassem no gargalo. Após esse tempo foi realizado o processo de degorgement, onde primeiramente as garrafas foram depositadas em líquido refrigerado em torno de 4 °C com o gargalo para baixo e logo em seguida foram submetidas a temperatura de -10 °C, utilizando uma solução hidroalcoólica com gelo, álcool e sal, essa fez com que o precipitado presente no gargalo da garrafa congelasse e através da abertura da mesma fosse expulso, seguida a expulsão do resíduo a garrafa foi imediatamente arrolhada para evitar a perda do gás carbônico e evitar a descaracterização do produto.

Figura 4 Etapas para o desenvolvimento do hidromel base e do hidromel gaseificado



Fonte: produzido pela autora

#### 4.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO HIDROMEL BASE E DO HIDROMEL GASEIFICADO NATURALMENTE

As análises realizadas foram de pH, acidez volátil, fixa e total, açúcares totais, redutores e não redutores, extrato seco, teor alcoólico, polifenóis totais e capacidade antioxidante.

##### 4.5.1 pH, acidez total, volátil e fixa

O pH foi determinado por método potenciométrico com medidor de pH (DM 22 Digimed®), previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0, a temperatura constante de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  (AOAC, 2005), O eletrodo foi mergulhado diretamente na amostra e fez-se a leitura.

A acidez total titulável (ATT) foi determinada após titulação com NaOH 0,1 N, adicionou-se 10 mL da amostra em frasco de erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de água destilada e 5 gotas de indicador fenolftaleína, procedendo a titulação até coloração rósea (IAL, 2008). O volume de NaOH gasto foi utilizado para obter o valor total titulável através da seguinte equação:

$$y = (n * f * N * 1000 / V) \quad (09)$$

Onde: n = volume de NaOH gasto na titulação; f = fator de correção do NaOH; N = normalidade do NaOH e V = volume da amostra, o resultado foi expresso em miliequivalente por litro da amostra ( $\text{meq L}^{-1}$ ).

A determinação da acidez volátil da amostra seguiu metodologia descrita por Pato (1992) em equipamento de destilação onde os gases são condensados através de uma serpentina refrigerada. O aparelho foi ligado para que a água contida no balão do equipamento entrasse em ebulição, quando em ebulição colocou-se 10 mL da amostra em orifício próprio e na saída da serpentina um erlenmeyer com 120 mL de água destilada, esperou-se a destilação ocorrer até se atingir o nível de 250 mL no erlenmeyer, adicionou-se 3 gotas de indicador fenolftaleína e procedeu-se a titulação com NaOH 0,1 N até atingir coloração rósea. O volume de NaOH gasto foi utilizado para obter o teor de acidez volátil na amostra através do cálculo utilizado para ATT. Para obter o teor de acidez fixa da amostra foi subtraído o valor de acidez do total da acidez volátil (AT-AV), e os resultados foram expressos em miliequivalente por litro da amostra ( $\text{meq L}^{-1}$ ).

#### 4.5.2 Açúcares totais, redutores e não redutores

A metodologia utilizada para a determinação de açúcares redutores e não redutores foi descrita por Lane & Eynon e adaptada por Moretto et al. (2008). Pipetou-se 50 mL da amostra para uma cápsula de porcelana e evaporou-se até início da fervura, transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL adicionou-se 2 mL de sulfato de zinco 30 % (30g em 100 mL de água destilada) mais 2 mL de ferrocianeto de potássio 15 % (15g em 100 mL de água destilada), completou o volume com água e filtrou. Em erlenmeyer de 250 mL, pipetou-se 5 mL da solução de Fehling A padronizada (69,28 g de sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), em 1000 mL de água destilada), e 5 mL da solução Fehling B padronizada (346 g de tartarato duplo de sódio e potássio -  $\text{KNa}(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6) \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  e 100 g de hidróxido de sódio, em balão de 1000 mL), 40 mL de água e pérolas de vidro. Em bureta de 25 mL, foi colocada a solução da amostra filtrada. A solução de Fehling foi colocada em chapa de aquecimento até entrar em ebulição, então adicionou-se a essa solução 5 gotas de solução de azul de metileno, e procedeu-se a titulação até descoloração do indicador e formação de um precipitado vermelho tijolo no fundo do erlenmeyer (não podendo exceder o tempo de 3 minutos para completar a titulação), anotou-se o volume gasto da solução de mel. Os resultados foram obtidos pelo cálculo:

$$y = 0,025 * 100/V \quad (10)$$

Onde: 0,025 = fator do Fehling dividido por dois; V = volume gasto na titulação, o resultado é o teor de açúcar redutor em glicose na amostra (50mL), o valor final foi expresso em gramas por litro ( $\text{g L}^{-1}$ ).

Após determinação dos açúcares redutores procedeu-se a determinação dos açúcares totais. Pipetou-se 20 mL da solução da amostra obtida na determinação de açúcares redutores para um balão volumétrico de 100 mL, adicionou-se 30 mL de água destilada e 2 mL de ácido clorídrico. Essa solução foi aquecida a 60 °C em banho-maria por 60 minutos, e após a solução atingir temperatura ambiente, foi neutralizada com solução de hidróxido de sódio 20%, usando papel indicador de pH, completou-se o balão com água, e procedeu-se a titulação como descrito para açúcares redutores. E os resultados obtidos pela equação 10, o resultado é o teor de açúcares totais da amostra (10 mL da amostra usada na hidrólise), o valor final foi expresso em gramas por litro ( $\text{g L}^{-1}$ ). O teor de açúcares não redutores em sacarose é obtido pela diferença entre os açúcares totais e os redutores.



#### 4.5.3 Extrato seco

O método seguido avaliou o resíduo seco da amostra, por evaporação e secagem em estufa (IAL, 2008), as cápsulas de porcelana foram previamente secas em estufa a  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  por 1 hora, resfriadas em dessecador e pesadas. Foram pipetados 20 mL da amostra para cápsula com pipeta volumétrica e levados ao banho-maria fervente até que a amostra aparentemente atingiu consistência xaroposa. Após o resíduo foi seco em estufa a  $105 \pm 2^\circ\text{C}$ , por 1 hora, resfriado em dessecador e pesado, repetindo-se essa operação até peso constante. O resultado foi obtido através da diferença entre o peso inicial da amostra e o peso da amostra após seca, e expresso em gramas por litro ( $\text{g L}^{-1}$ ).

#### 4.5.4 Teor alcoólico

A dosagem de álcool em volume foi feita por ebuliometria com o uso de um ebuliômetro Dujardin-Salleron. A amostra foi fervida e seu ponto de ebulição comparado com a tabela de conversão, corrigindo-se com o ponto de ebulição da água no dia da análise. Foi feita a lavagem do ebuliômetro entre as amostras, com a próxima amostra a ser analisada, para evitar problemas de diluição. Os resultados foram expressos em % (v/v).

#### 4.5.5 Determinação dos compostos fenólicos

A quantificação dos compostos fenólicos presente em cada amostra de hidromel foi determinada por espectrofotometria, por meio da reação de oxirredução com o reagente de Folin-Ciocauteu, que reage com as hidroxilas presentes nos polifenóis, segundo a metodologia descrita por Singleton e Rossi (1965).

As amostras de hidromel foram diluídas na proporção de 1:10 v/v em solução extratora alcoólica acidificada (etanol, água e HCl, 70:30:1). Foi pipetado para outro tubo, 200  $\mu\text{L}$  da amostra diluída, na qual adicionou-se 1000  $\mu\text{L}$  do reagente de Folin-Ciocauteu (1:10  $\text{H}_2\text{O}$ ) sendo adicionado na sequência 800  $\mu\text{L}$  de carbonato de sódio ( $\text{NaCO}_2$ ) 7,5%.

As leituras das amostras foram realizadas em triplicata das absorbâncias em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO<sup>®</sup> 600 plus) em comprimento de onda de 765 nm, após terem permanecido em repouso por duas horas em temperatura ambiente. O cálculo do teor de compostos fenólicos foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra a

curva de calibração constituída com padrão de ácido gálico, nas concentrações de 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 e 80 mg L<sup>-1</sup>. Os resultados foram expressos em mg de EAG (equivalente de ácido gálico) por litro de fermentado (mg EAG L<sup>-1</sup>). A equação da curva de calibração do ácido gálico foi  $Y = 136,2 X - 4,3422$ , onde Y é a concentração de ácido gálico e X é a absorbância a 765 nm, o coeficiente de correlação da curva analítica foi de  $R^2 = 0,9984$ .

#### 4.5.6 Capacidade antioxidante

##### 4.5.6.1 Método ABTS

O método utilizado para a determinação da atividade antioxidante pelo radical ABTS•<sup>+</sup>, seguiu a metodologia descrita por Re et al. (1999). Esse método baseia-se na geração do ABTS•<sup>+</sup>, que apresenta coloração azul esverdeado, por meio da reação do ABTS com persulfato de potássio. Com a adição de um antioxidante na reação, ocorre a redução do ABTS•<sup>+</sup> a ABTS, provocando dessa forma a perda de cor do meio. A leitura das absorbâncias das amostras foram realizadas após 6 minutos da reação em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO<sup>®</sup> 600 plus) a 750 nm.

A concentração de ABTS foi calculada a partir de uma curva de calibração utilizando Trolox como padrão ( $Y = 0,0046 X - 0,0185$ ), onde Y é a concentração de Trolox e X é a % de inibição da absorbância corrigida, nas concentrações de 0 a 0,200 mM de Trolox. O coeficiente de correlação obtido da curva de calibração foi de  $R^2 = 0,9919$ . Todas as leituras foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos em mM de Trolox por litro do fermentado (mM TEAC L<sup>-1</sup>), determinando a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox.

##### 4.5.6.2 Método DPPH

A metodologia utilizada para determinar a capacidade de sequestrar radicais livres foi descrita por Brand-Williams, Cuveler e Berset (1995). Este método tem por finalidade a redução do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) por antioxidantes da amostra produzindo um decréscimo da absorbância a 517 nm que podem ser detectados por espectrofotometria.

A solução estoque de DPPH foi preparada com 24 mg de DPPH diluídos em 100 mL de etanol, sendo está estocada em frasco âmbar coberto com folhas de alumínio para evitar contato com a luz e mantida em refrigeração até o momento da realização da análise. A solução de

trabalho foi obtida por diluição da solução concentrada de DPPH com etanol obtendo-se uma absorbância de 1,095 a 517 nm, usando espectrofotômetro UV-visível (FEMTO® 600 plus). Misturou-se 1,9 mL dessa solução com 50 µL da amostra de cada fermentado. Essa solução foi agitada e incubada por 24 horas em temperatura ambiente e no escuro para que ocorresse a reação.

A medida das absorbâncias das amostras foi efetuada a 517 nm e contra um branco controle. A concentração de DPPH foi calculada a partir de uma curva de calibração utilizando Trolox como padrão ( $Y = 0,0046 X - 0,0185$ ), onde Y é a concentração de Trolox e X é a % de inibição da absorbância corrigida, nas concentrações de 0 a 0,250 mM de Trolox, o coeficiente de correlação da curva de calibração foi de 0,9919. Os resultados foram expressos em mM de Trolox por litro do fermentado (mM TEAC L<sup>-1</sup>), determinando a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox.

#### 4.6 AVALIAÇÃO SENSORIAL

As formulações do hidromel gaseificado naturalmente com mel silvestre e de laranjeira foram submetidos aos testes afetivos de aceitação e de ordenação quanto à preferência. A avaliação sensorial foi realizada em sala com cabines individuais, com ausência de odores e sob luz branca, nas dependências do laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos da UFSM. As amostras foram servidas em temperatura ambiente para evitar a descaracterização das bolhas presentes na amostra de hidromel gaseificado naturalmente. Foram utilizados copos de acrílico, transparentes e codificados com algarismos de três dígitos aleatórios. Além disso, foi oferecido aos provadores um copo com água à temperatura ambiente e um biscoito de água e sal, para proporcionar a limpeza das papilas gustativas entre as avaliações das amostras (FERREIRA et al., 2000).

Os avaliadores foram recrutados localmente, em caráter totalmente voluntário, esses compõem o quadro de funcionários e alunos da instituição, sendo estes informados verbalmente e por meio de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) dos objetivos, benefícios e riscos da participação na pesquisa, bem como esclarecidos sobre a total confidencialidade dos dados. Os testes foram conduzidos com 102 provadores adultos não treinados de ambos os sexos.

O teste de aceitação, foi realizado em uma primeira sessão, com o objetivo de avaliar a preferência global dos provadores em relação aos hidroméis considerando os atributos

sensoriais com relação a formação de bolhas, cor, odor, sabor e aparência global, utilizando escala hedônica estruturada verbal de sete pontos (1 = desgostei muitíssimo, 4 = indiferente e 7 = gostei muitíssimo) para cada atributo testado. Nesta mesma sessão foi aplicado o teste de ordenação quanto a preferência, onde os provadores ordenaram as amostras da mais preferida para a menos preferida (FERREIRA et al., 2000; IAL, 2008).

Para a realização da avaliação sensorial do hidromel gaseificado, o projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP/MS), sendo aprovado (CAAE 58889316.3.0000.5346) em seus aspectos éticos e metodológicos atendendo as Diretrizes estabelecidas na Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2012).

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos das análises físico químicas e sensorial foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), com auxílio do programa Statistica versão 7.0.

### 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da caracterização físico-química demonstram que os méis (Tabela 1) utilizados como matéria prima para a produção dos hidroméis, apresentaram-se dentro dos padrões de qualidade e identidade característico de mel puro de abelhas (*Apis mellifera*), obedecendo aos limites fixados pela legislação brasileira constantes na Instrução Normativa número 11 de 2000 emitida pelo Ministério da Agricultura (BRASIL, 2000).

O teor de açúcares redutores é de fundamental importância na produção de hidromel, pois, esses são responsáveis pela produção de álcool através da ação das leveduras adicionadas ao mosto. Os valores encontrados para os méis estudados apresentaram diferença significativa, sendo, 72,49 g 100g<sup>-1</sup> para mel silvestre e 67,57 g 100g<sup>-1</sup> para o mel de laranjeira (Tabela 1), isso pode ser explicado devido as diferentes fontes florais dos méis em questão. Komatsu, Marchini e Moreti (2002) encontraram para mel silvestre valores variando de 53,2 a 80,0g 100g<sup>-1</sup> e para mel de laranjeira de 68,6 a 77,9 g 100g<sup>-1</sup>, valores que corroboram com os encontrados no estudo em questão.

O pH e a acidez do mel são considerados importantes fatores antimicrobianos, provendo maior estabilidade ao produto quanto ao desenvolvimento de microrganismos (GOIS et al., 2013). No presente trabalho o pH do mel foi semelhante entre as duas fontes (Tabela1). A legislação brasileira exige o valor máximo de acidez total para o mel de 50 meq Kg<sup>-1</sup>, os valores encontrados para os diferentes méis estudados foram para o mel de laranjeira de 4,08 meq Kg<sup>-1</sup>, sendo mais ácido do que o mel silvestre com 3,67 meq Kg<sup>-1</sup>, esses teores podem ser explicados pelos diferentes tipos de florada de cada mel. Esses valores baixos são desejados pois significa que o mel foi extraído adequadamente das favas e armazenado de forma correta. Possivelmente a acidez dessas amostras seja de natureza lactônica pois os resultados são correlacionados e a acidez livre não apresentou diferença significativa, variando de 0,03 a 0,13 meq Kg<sup>-1</sup>. O teor de acidez do mel tem influência direta sobre o pH, isso implica além da estabilidade final do produto, interferência na palatabilidade, pois o consumidor busca por um produto ácido, que remete à refrescância, mas com relativa suavidade ao paladar (GOIS et al., 2013).

Tabela 1 - Caracterização físico-química dos méis utilizados na produção do hidromel base.

Parâmetros	Mel Silvestre	Mel Laranjeira	Parâmetros de qualidade do mel
Açúcares redutores (g 100g <sup>-1</sup> )	72,49 a	67,57 b	> 65
Açúcares não redutores (g 100g <sup>-1</sup> )	3,39 a	3,91 a	< 6
pH	3,93 a	3,97 a	NA
Acidez Livre (meq Kg <sup>-1</sup> )	0,13 a	0,03 a	NA
Acidez Lactônica (meq Kg <sup>-1</sup> )	3,53 b	4,04 a	NA
Acidez Total (meq Kg <sup>-1</sup> )	3,67 b	4,08 a	< 50
HMF (mg Kg <sup>-1</sup> )	5,09 a	8,67 a	< 60
Minerais (%)	0,40 a	0,15 b	< 0,6
Umidade (%)	19,93 a	19,80 a	< 20
Sólidos Insolúveis em Água (%)	0,06 a	0,04 a	< 0,1
Polifenóis totais (mg Kg <sup>-1</sup> )	485,84 a	471,31 a	NA

Letras minúsculas diferentes na mesma linha correspondem a diferenças significativas entre os méis pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ); NA: não se aplica.

O Codex Alimentarius (2001) definiu como a concentração máxima de HMF permitida um valor equivalente a 40 mg kg<sup>-1</sup> de mel a partir de regiões não tropicais e 80 mg kg<sup>-1</sup> de mel a partir de regiões tropicais. Já a legislação brasileira preconiza valores de HMF de no máximo 60 mg kg<sup>-1</sup> (BRASIL, 2000), valores superiores indicam possível adulteração, mal acondicionamento ou mel velho. Os valores médios das amostras encontrados no presente

estudo, apresenta-se bem abaixo ao limite máximo exigido pela legislação brasileira, sendo 5,09 mg Kg<sup>-1</sup> para o mel silvestre e 8,67 mg Kg<sup>-1</sup> para o mel de laranja.

O mel é considerado uma fonte pobre de conteúdo mineral sendo que o limite máximo estabelecido pela legislação brasileira é de 0,6% (BRASIL, 2000). O presente estudo encontrou os valores médios de minerais, 0,40 % para mel silvestre e 0,15% para mel de laranja, esses apresentaram diferença significativa entre os valores apresentados (Tabela 1). O teor de minerais no mel pode fornecer informações sobre a ocorrência de poluição ambiental ou sobre a origem geográfica do mel, valores reduzidos do teor de cinzas entre amostras de mel, podem indicar que foi aplicada corretamente as boas práticas no processo de recolha e/ou as técnicas utilizadas pelos produtores (ANKLAM, 1998; FINOLA et al., 2007).

O teor de umidade está diretamente relacionado com a qualidade do mel. Quando esse teor é elevado, proporciona a fermentação do mel que não é desejado nesta matéria prima *in natura*. No presente estudo os teores de umidade variaram de 19,80% a 19,93%, estando as amostras analisadas próximas, mas ainda dentro do padrão exigido pela legislação brasileira que limita em 20% (BRASIL, 2000). Em estudo realizado por Evangelista et al. (2005), os índices de umidade encontrados em méis produzidos em duas diferentes regiões da Paraíba, variaram de 18,06% a 25,26%, estando alguns desses valores superiores ao preconizado pela legislação brasileira (BRASIL, 2000).

Observando-se os resultados para o parâmetro de sólidos insolúveis (Tabela 1), percebe-se que não houve diferença significativa entre as amostras (0,06 e 0,04 %), ficando dentro dos padrões exigidos pela legislação. Evangelista et al. (2005), trabalhando com tipos de méis poliflorais do estado da Paraíba, também obtiveram em suas amostras valores semelhantes para sólidos insolúveis (0,01 %), estando todas as amostras com valores inferiores a 0,1%.

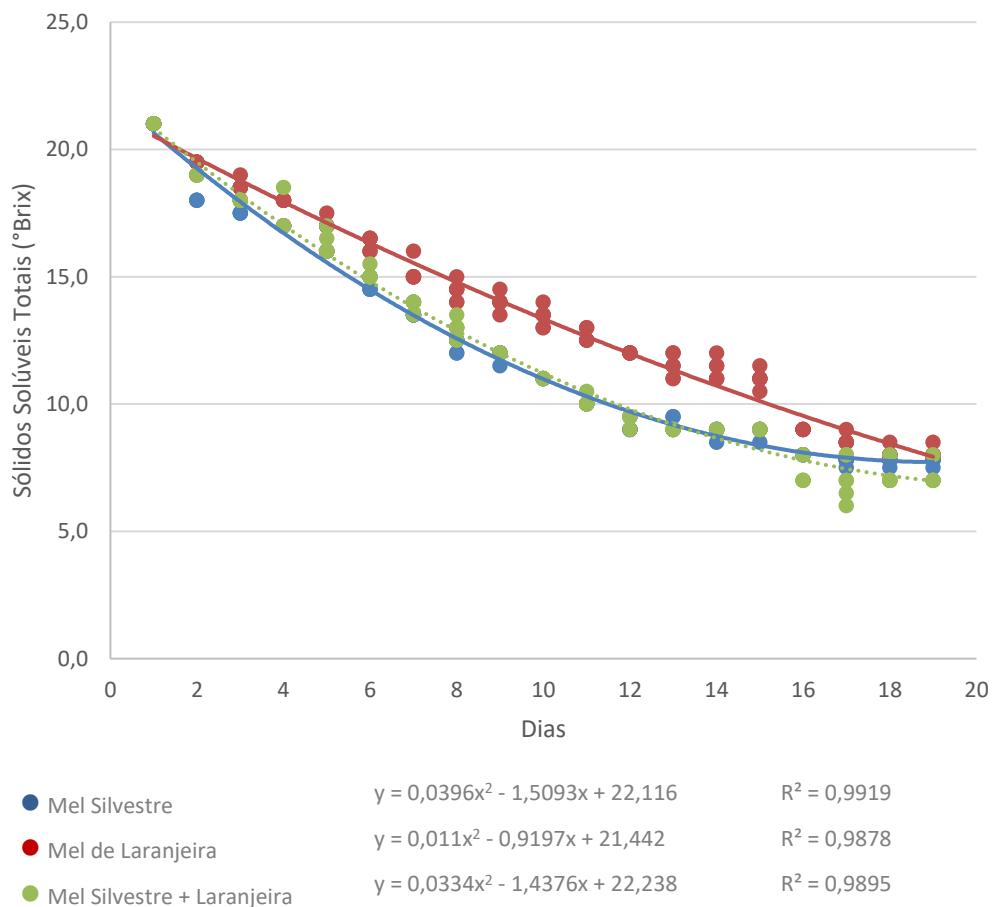
O mel é um composto rico em compostos fenólicos. Os méis analisados no presente estudo apresentaram teor de compostos fenólicos de 485,84 mg EAG kg<sup>-1</sup> para mel silvestre e 471,31 mg EAG kg<sup>-1</sup> para mel de laranja, não sendo significativamente diferentes entre si. Lopes (2010) analisou 27 amostras de mel de diferentes origens e encontrou teores de compostos fenólicos variando entre 60,60 mg EAG kg<sup>-1</sup> e 355,74 mg EAG kg<sup>-1</sup>. Como descrito por alguns autores, o teor de compostos fenólicos no mel varia de acordo com sua origem botânica e coloração do mel (AL MAMARY et al., 2002; BERTONCELJ et al., 2007)

Tendo em vista que as amostras de méis após analisadas físico quimicamente se mostraram como matéria prima de qualidade, atendendo as exigências de identidade e qualidade

exigidas pela legislação para mel puro, foram usadas no preparo dos hidroméis base para posterior gaseificação.

A utilização do mel de laranjeira como única matéria prima base para a elaboração do hidromel base apresenta uma taxa de fermentação diferenciada entre 8º e 16º dia, sendo mais lenta (Figura 5). Com a adição de 50% de mel silvestre, a cinética fermentativa equipara-se ao mel silvestre isoladamente, favorecendo a velocidade fermentativa.

Figura 5 - Cinética fermentativa dos hidromeis base (n=6)



A acidez é utilizada como um padrão importante para a determinação da qualidade de bebidas fermentadas. A combinação dos méis Silvestre (50%) e Laranjeira (50%) proporciona uma maior acidez total, no hidromel base, assim como as suas frações de acidez fixa e volátil (Tabela 2). Independente da fonte de mel, todos os tratamentos originaram hidroméis base de acordo com os parâmetros de qualidade exigidos pela legislação (BRASIL, 2008). No entanto, não há legislação para o hidromel gaseificado naturalmente. Apesar disso, esses mesmos hidroméis apresentam características compatíveis com a legislação de hidromel tradicional. Sendo, portanto, um produto viável sem empecilhos tecnológicos quanto aos parâmetros de

qualidade da legislação. Os teores de acidez total do hidromel gaseificado apresentaram um incremento com relação ao hidromel base. A elevação no teor de acidez total após a segunda fermentação durante 90 dias na garrafa poderia ser decorrente da formação de ácidos orgânicos não voláteis, como por exemplo o ácido succínico, derivado do metabolismo das leveduras e que, pode alcançar concentrações de até  $1 \text{ g L}^{-1}$  como em vinhos (RIBEREAU-GAYON et al., 2006).

Tabela 2 – Caracterização quanto aos teores de acidez total, volátil e fixa e pH dos hidroméis base e gaseificado.

Tratamentos	Hidromel Base		Hidromel Gaseificado		Legislação Brasileira para Hidromel
	Acidez Total ( $\text{meq L}^{-1}$ )				
Mel Silvestre	54,56	bB	62,44	aA	50 a 130
Mel de Laranja	54,00	bB	58,11	bA	
Mel Silvestre + Laranja	59,67	aA	58,22	bA	
	Acidez Volátil ( $\text{meq L}^{-1}$ )				
Mel Silvestre	14,17	bA	14,39	bA	< 20
Mel de Laranja	14,61	bA	15,44	bA	
Mel Silvestre + Laranja	17,67	aB	19,56	aA	
	Acidez Fixa ( $\text{meq L}^{-1}$ )				
Mel Silvestre	40,39	aB	48,06	aA	> 30
Mel de Laranja	39,39	aB	42,67	bA	
Mel Silvestre + Laranja	42,00	aA	38,67	bB	
	pH				
Mel Silvestre	3,57	aB	3,65	aA	NA
Mel de Laranja	3,27	cB	3,49	cA	
Mel Silvestre + Laranja	3,43	bB	3,58	bA	

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna correspondem a diferenças significativas de cada fermentado e letras maiúsculas na mesma linha representam diferenças significativas entre o hidromel base e o hidromel gaseificado pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). NA: não se aplica.

As fontes de matéria prima para a carbonatação parecem interferir no segundo processo fermentativo, onde a acidez total é levemente mais elevada com mel silvestre representando em torno de 6,9 % mais ácido do que o mel de laranja assim como a combinação de méis. O mesmo comportamento é observado na acidez fixa, porém em maior proporção, de 11,2 %. No entanto, a combinação dos méis resultou no teor de acidez volátil mais acentuado (26,4 %) em relação aos méis independentes. Normalmente, quando a acidez volátil se apresenta relativamente alta pode ser indicativo da formação de ácido acético em excesso, isso ocorre quando o processo fermentativo não é conduzido de modo adequado, promovendo



contaminação por bactérias acidogênicas ou eventual oxidação (BAUER e PRETORIUS, 2000). No presente trabalho, os provadores não reconheceram aromas estranhos que desgostassem (Tabela 6). Segundo Mendes-Ferreira et al. (2010), a composição de compostos voláteis está diretamente ligada com as características sensoriais do hidromel. O mesmo autor cita que os teores de acetato de etila estão diretamente relacionados aos de ácido acético. Desse modo, hidroméis com teores elevados de acidez volátil apresentam concentrações mais acentuadas de acetato de etila, composto que em altas concentrações pode conferir odor de solvente na bebida final. Portanto, seria necessários estudos complementares para elucidar a natureza destes ácidos voláteis e assim indicar qual a rota fermentativa está sendo ativada ou qual o analito preponderante que interfere no resultado.

Os teores de pH para o hidromel não estão estabelecidos na legislação, porém é um fator extremamente importante no processo fermentativo do hidromel. Os valores de pH do estudo em questão variaram de 3,27 a 3,65. Alguns autores trazem como pH ideal para que a fermentação ocorra de forma progressiva valores entre 3,0 e 4,5 (MILESKI, 2016; NAVRÁTIL, STURDÍK e GEMEINER, 2001; PEREIRA, 2008).

Os valores obtidos para os teores de açúcares totais no hidromel base (29,71 – 36,33 g L<sup>-1</sup>) demonstram que o processo fermentativo ainda não havia chegado ao fim, porém ocorreu um consumo entre 82,7 a 85,8 % na primeira fermentação onde, durante a conversão dos açúcares a etanol, o CO<sub>2</sub> era eliminado através do selo d'água estabilizando a pressão em 1 atmosfera. Já na segunda fermentação, os teores de açúcares totais no hidromel gaseificado foram mais elevados (36,42 – 42,46 g L<sup>-1</sup>), o que representa um consumo adicional de 27,5 a 32,2 %. Esse consumo demonstra que a levedura fermentou em condições que geraram maior estresse, pois nessa fermentação o CO<sub>2</sub> permanece na garrafa podendo acumular-se a aproximadamente 6 atmosferas (RIZZON, MENEGUZZO, ABARZUA, 2000). Para iniciar a segunda fermentação foi adicionado 24 g L<sup>-1</sup> de mel que poderia causar a inibição do processo fermentativo, devido às pressões osmóticas excessivas, devido as concentrações elevadas de açúcar (SROKA E TUSZYŃSKI, 2007), além do etanol presente no hidromel base (10,6 %) para todos os tratamentos (Tabela 3).

A legislação brasileira sobre hidromel não define características sobre a palatabilidade quanto ao teor de açúcares (BRASIL, 2008). No entanto, tal característica é descrito no Decreto nº 8.198 de, 20 de fevereiro de 2014 para vinhos (BRASIL, 2014), que regulamenta as normas referentes a complementação dos padrões de identidade e qualidade, onde os vinhos de mesa com até 4,0 g L<sup>-1</sup> de glicose são classificados como “seco”, vinhos entre 4,1 a 25 g L<sup>-1</sup> são

classificados como “meio seco”, seguindo essa classificação os hidroméis gaseificados podem ser classificados como meio seco.

Tabela 3 - Caracterização quanto aos teores de açúcares totais, redutores e não redutores, extrato seco reduzido e teor alcoólico no hidromel base e no hidromel gaseificado naturalmente.

Tratamentos	Hidromel Base		Hidromel Gaseificado		Legislação Brasileira para Hidromel
Açúcares redutores em glicose (g L <sup>-1</sup> )					
Mel Silvestre	12,85	cB	18,62	aB	
Mel de Laranjeira	19,03	aB	22,91	aA	NA
Mel Silvestre + Laranjeira	14,82	bB	24,41	aA	
Açúcares Totais (g L <sup>-1</sup> )					
Mel Silvestre	29,71	bB	36,42	cA	
Mel de Laranjeira	36,33	aB	42,46	aA	NA
Mel Silvestre + Laranjeira	29,71	bB	38,92	bA	
Açúcares não redutores em sacarose (g L <sup>-1</sup> )					
Mel Silvestre	16,02	aB	16,91	bA	
Mel de Laranjeira	16,43	aB	18,58	aA	NA
Mel Silvestre + Laranjeira	14,15	bA	13,00	cB	
Extrato seco reduzido (g L <sup>-1</sup> )					
Mel Silvestre	20,18	bB	24,37	abA	
Mel de Laranjeira	25,86	aA	25,55	aA	>7
Mel Silvestre + Laranjeira	23,35	aA	22,25	bA	
Teor Alcoólico (v/v)					
Mel Silvestre	10,6	aA	10,6	aA	
Mel de Laranjeira	10,6	aA	10,6	aA	4 -14%
Mel Silvestre + Laranjeira	10,6	aA	10,6	aA	

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna correspondem a diferenças significativas de cada fermentado e letras maiúsculas na mesma linha representam diferenças significativas entre o hidromel base e o hidromel gaseificado pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

De acordo com a legislação brasileira, o hidromel deve apresentar teores de extrato seco reduzido mínimo de 7 g L<sup>-1</sup> (BRASIL, 2008). Os valores encontrados variaram de 20,2 a 25,9 g L<sup>-1</sup> para o hidromel base e 22,2 a 25,5 g L<sup>-1</sup> para o hidromel gaseificado (Tabela 3). Hashizume (2001) afirmou que o teor de extrato seco determina o corpo do vinho e que bebidas com menos de 20 g L<sup>-1</sup> de extrato são consideradas leves e, acima de 25 g L<sup>-1</sup>, encorpadas. Dessa forma, tanto o hidromel base como o hidromel gaseificado poderão ser percebidos sensorialmente como bebidas encorpadas.

Como já comentado, o teor alcoólico do hidromel base e do hidromel gaseificado não apresentaram diferença significativa (10,6 % v/v) (Tabela 3). A literatura reporta que ocorre

alterações do teor alcoólico durante a segunda fermentação na garrafa, podendo ocorrer a elevação de até 1, 5 % do teor alcoólico (RIZZON, MENEGUZZO, ABARZUA, 2000). No entanto, tal efeito não foi observado com a adição de 24 g L<sup>-1</sup> de mel. O objetivo inicial era de atingir um teor alcoólico de 12 %, porém como demonstrado anteriormente através do residual de açúcares totais, a fermentação não foi concluída, isso explica um teor alcoólico inferior ao previsto. Brunelli (2015) analisou o teor alcoólico de hidroméis com mosto inicial de 20 °Brix para mel de laranja e mel silvestre, e obteve valores de 10,50 % e 10,98 % (v/v) respectivamente, corroborando com o valor encontrado no presente estudo.

Tabela 4 - Caracterização quanto ao teor de polifenóis e a atividade antioxidante do hidromel base e do hidromel gaseificado naturalmente.

Tratamentos	Hidromel Base	Hidromel Gaseificado
	Polifenóis Totais (mg EAG L <sup>-1</sup> )	
Mel Silvestre	213,77 aA	218,38 aA
Mel de Laranja	179,72 bB	203,40 bA
Mel Silvestre + Laranja	201,97 aB	223,83 aA
	ABTS (mM TEAC L <sup>-1</sup> )	
Mel Silvestre	1,45 abB	2,04 abA
Mel de Laranja	1,63 aB	1,80 bA
Mel Silvestre + Laranja	1,26 bB	2,16 aA
	DPPH (mM TEAC L <sup>-1</sup> )	
Mel Silvestre	0,06 aB	0,07 aA
Mel de Laranja	0,05 bB	0,07 aA
Mel Silvestre + Laranja	0,05 bB	0,07 aA

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna correspondem a diferenças significativas de cada hidromel e letras maiúsculas na mesma linha representam diferenças significativas entre os hidroméis pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

O mel é um composto rico em compostos fenólicos (Tabela 1). Mesmo com a diluição do mel para a produção do hidromel pode-se observar que tanto o hidromel base (179,72 a 213,77 mg EAG L<sup>-1</sup>) quanto o hidromel gaseificado (203,40 a 223,83 mg EAG L<sup>-1</sup>) apresentaram teores relevantes de polifenóis totais em sua composição (Tabela 4). O hidromel de mel silvestre apresentou diferença significativa com relação ao mesmo com mel de laranja, isso possivelmente seja devido a flora mais diversificada que o mel silvestre apresenta e por ser um mel mais escuro, como também observado por Estevinho et al., (2008). No entanto, para o hidromel gaseificado, a combinação de méis suplementares utilizados para carbonatação proporcionou maior teor de polifenóis totais, seguido do mel silvestre. Ferraz (2014) realizou estudo utilizando diferentes suplementos no mosto hidromeleiro (controle,

suplementado com Enovit e suplementado com maçã) e obteve resultados de 201,09, 203,23 e 285,12 mg EAG L<sup>-1</sup>, respectivamente, demonstrando que tanto o mel silvestre quanto o de laranjeira atingiram níveis substanciais destes compostos, mesmo sem suplementação.

Com relação ao radical ABTS, o hidromel base de mel de laranjeira apresentou a maior atividade antioxidante seguido do mel silvestre (Tabela 4). Recentemente, muitos estudos ligam a avaliação da atividade antioxidante do mel com o seu conteúdo de compostos fenólicos (MEDA et al., 2005; ESTEVINHO et al., 2008; AL et al., 2009) e conseqüentemente com a sua origem botânica (BERTONCELJ et al., 2007). No presente trabalho essa correlação foi observada apenas na segunda fermentação (Tabela 4). O método análogo de mensuração da atividade antioxidante (DPPH) parece não ser seletivo, sendo recomendado o ABTS.

Tendo em vista que os diferentes tipos de hidromel gaseificado obtidos no presente estudo apresentaram características físico-químicas que atenderam aos padrões de qualidade estabelecidos pela legislação, procedeu-se então a avaliação sensorial das respectivas bebidas.

As análises sensoriais realizadas nesse estudo foram conduzidas com o intuito de verificar a aceitação e a preferência dos provadores frente as características gerais dos hidroméis gaseificados naturalmente. O painel de provadores tanto no teste discriminativo de ordenação da preferência quanto no teste afetivo de aceitação contou com a participação de 102 provadores não treinados em uma única sessão para os dois testes.

Tabela 5 - Diferenças entre os pares de somatório total do teste de ordenação da preferência para os hidroméis gaseificados naturalmente.

Amostras	Hidromel Gaseificado		
	Mel silvestre	Mel de Laranjeira	Mel Silvestre + Laranjeira
Somatório Total	127 a	148 a	135 A
Diferença c I		21	8
Diferença x II			29

Médias com letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Newel-McFarlane  $p \leq 0,05$

Na avaliação sensorial pelo teste de ordenação da preferência (Tabela 5), comparando-se os módulos da diferença com a diferença mínima significativa de 34, conforme a tabela de Newel-McFarlane (1987), apesar do hidromel gaseificado com mel de laranjeira ter obtido maior nota esses não apresentaram diferença estatística significativa entre os tratamentos avaliados ao nível de 5 % de significância.

Tabela 6 - Escores médios dos atributos sensoriais avaliados no teste de aceitação dos hidroméis gaseificados naturalmente.

Atributos Sensoriais	Hidromel Gaseificado		
	Mel silvestre	Mel de Laranja	Mel Silvestre + Laranja
Formação de Bolhas	5,34 b	5,45 a	5,46 a
Cor	5,36 c	5,51 a	5,42 b
Odor	4,97 c	5,54 a	5,07 b
Sabor	4,76 c	5,35 a	5,04 b
Aceitação Global	5,12 b	5,41 a	5,30 a

Médias com letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey  $p \leq 0,05$

Para o teste de aceitação foram avaliados os atributos de formação de bolhas, cor, odor, sabor e aparência global dos hidroméis gaseificados (Tabela 6). Para a avaliação da formação de bolhas nos hidroméis observou-se que os que melhor agradaram os avaliadores foram os com mel de laranja e a mistura dos dois méis, esses foram estatisticamente diferente do com mel silvestre.

Figura 6 Diferentes méis utilizados para elaboração do hidromel base e hidroméis gaseificados naturalmente.



Mel Silvestre



Mel de Laranja



Mel Silvestre + Laranja



Hidromel gaseificado de Mel Silvestre



Hidromel gaseificado de Mel de Laranja



Hidromel gaseificado de Mel Silvestre + Laranja

Fonte: Arquivo pessoal da autora.

Para os atributos de odor e sabor, os escores médios obtidos situaram-se entre 4 e 6 correspondendo aos termos “indiferente” e “gostei muito” na escala hedônica estruturada de sete pontos (Tabela 6). Para esses dois atributos, todos os hidroméis diferiram entre si, sendo o hidromel gaseificado de mel silvestre o menos apreciado entre os provadores, e o do mel de laranja o mais apreciado nos dois atributos. Provavelmente, por ter sido elaborado com mel de laranja, que apresenta flora única e marcante, esse hidromel apresentou características mais bem definidas quanto a odor e sabor, remetendo ao tipo de mel utilizado. Já nos dois outros hidroméis gaseificados (mel silvestre e combinação dos méis), a flora do mel silvestre pode ter interferido na distinção desses atributos por ser variada. Levando-se em consideração que cada flora é característica quanto às espécies envolvidas e as condições edafoclimáticas, são necessários novos experimentos para elucidar a composição fitoquímica.

Com relação a aceitação global dos hidroméis gaseificados elaborados com diferentes tipos de mel, todas as amostras tiveram boa aceitação global dos provadores, com escores de aceitação correspondendo ao termo “gostei” da escala hedônica de sete pontos (Tabela 6). Os hidroméis gaseificados de mel de laranja e a combinação de méis não diferiram estatisticamente entre si, sendo os melhores em termos de aceitação. Provavelmente devido ao mel de laranja apresentar-se mais acentuado para todos os atributos por ser um mel mais específico.

## **6 CONCLUSÃO**

As fontes de mel silvestre e de laranja utilizadas como matéria prima na produção do hidromel apresenta-se de qualidade físico química o que contribui para a elaboração de uma bebida alcoólica de qualidade.

As diferentes formulações de mosto de mel, permitem obter um hidromel base com características físico químicas que atendem aos padrões estabelecidos pela legislação vigente, fornecendo um produto de qualidade para posterior uso no hidromel gaseificado naturalmente.

O tipo de mel influencia na aceitação sensorial, sendo o hidromel gaseificado com mel de laranja o mais apreciado entre os provadores.

Através do estudo realizado foi possível obter uma bebida alcoólica diferenciada com alto potencial mercadológico, sendo necessários mais estudos com o objetivo de aprofundar o conhecimento sobre os compostos fitoquímicos presentes no hidromel gaseificado naturalmente.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEMEL. **Associação Brasileira dos Exportadores de Mel**, 2014. Disponível em: <http://brazilletsbee.com.br/a-abemel.aspx>. Acesso em: 13 nov. de 2015.

AI, M.L., DANIEL, D., MOISE, A., BOBIS, O., LASLO, L., BOGDANOV, S.,. Physicochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. **Food Chemistry**, 112, p.863-867, 2009.

AI-MAMARY, M., Al-Meeri, A., Al-Habori, M.,. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. **Nutrition Resaearch**, 22, p. 1041-1047, 2002.

ACQUARONE, C., BUERA, P., ELIZALDE, B. Pattern of pH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys. **Food Chemistry**, 101, p. 695–703, 2007.

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

AOAC, **Association of Official Analytical Chemists**. Official Methods os Analysis of the AOAC International. 18 th ed., supplement 1998. Washington. AOAC, 1018p., 2005.

AZEREDO, L.C., AZEREDO, M.A.A., SOUZA, S.R., DUTRA, V.M.L. Protein contentes and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different origins. **Food Chemistry**, 80, p. 249-254, 2003.

BAUER, F.F.; PRETORIUS, I.S. Yeast stress response and fermentation efficiency: How to survive the making of wine. A review. **S.Afr.J.Vitic.**, v 21, special issue, 2000.

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

BERTELLO. J.P. **Mead: A partir de mel, vinho**. Maio de 2001. Disponível em: <http://www.revistainterforum.com/espanol/articulos/051402Naturalmente.html>. Acesso em: 29 jun. de 2015.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidante activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v.22, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Cadeia produtiva de flores e mel. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Política Agrícola, **Instituto Interamericano de Cooperação**

**para a Agricultura**; Brasília; IICA; MAPA/SPA, 2007, 140p., .9. Disponível em: <http://www.iica.org.br/docs/cadeiasprodutivas/cadeia%20produtiva%20de%20flores%20e%20mel.pdf>

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres Humanos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 13 jun. bebidas alcoólicas fermentadas: fermentado de fruta, sidra, hidromel, fermentado de cana, fermentado de fruta licoroso, fermentado de fruta 2013.

BRASIL. Decreto nº 8.198 de, 20 de fevereiro de 2014. Regulamenta a Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 64, de 23 de abril de 2008. Regulamentos técnicos para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para as compostos e saquê. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 24 de abril de 2008. Seção I, p.9.

BRASIL. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 23 de outubro de 2000. Seção I, p. 16-17.

BRUNELLI, L.T. **Caracterização físico-química, energética e sensorial de hidromel**. Tese de doutorado, Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP-Campus de Botucatu, 94p. 2015

CASELLAS, G.B. **Effect of low temperature fermentation and nitrogen content on wine yeast metabolism**. Tese de Doutorado apresentada a Universitat Rovira i Virgili, 2005.

CODEX ALIMENTARIUS. Revised codex standard for honey. Rev. 2 [2001]. 24th session of the **Codex Alimentarius** in 2001. Disponível em: <http://www.codexalimentarius> Acesso: janeiro de 2017.

DE RODRÍGUEZ, G.O., FERRER, B.S., FERRER, A., RODRÍGUEZ, B. Characterization of honey produced in Venezuela. **Food Chemistry**, 84, p. 499-502, 2004.

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

EVANGELISTA, A.R.; SILVA, E.M.S.; BESERRA, E.M.F, RODRIGUES, M.L. Análise físico-química dos méis das abelhas *Apis mellífera* e *Melipona scutellaris* produzidos em duas regiões no Estado da Paraíba. **Ciência Rural**, v.35, n. 5, set-out, 2005.



FERRAZ, F.O. **Estudo dos parâmetros fermentativos, características físico químicas e sensoriais do hidromel**. Tese de doutorado em ciências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Microbiologia Aplicada. Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, 2014.

FERREIRA, V. L. P. et al. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. Campinas: SBCTA, 127p. **Manual – Série Qualidade**, 2000.

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

GOIS, G.C.; LIMA, C.A.B.; SILVA, L.T.; EVANGELISTA-RODRIGUES, A. Composição do mel de *Apis mellifera*: requisitos de qualidade. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.7, n.2, p.137-147, 2013.

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

HASHIZUME, T. Tecnologia do vinho. In: AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A. (Coords.). **Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na Produção de Alimentos**. São Paulo: Edgard Blucher, 2001. cap. 2, p. 21-68.

IAL – INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos**. 4. ed. São Paulo: IAL, 1020p.. **Versão eletrônica**, 2008.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Enciclopédia dos municípios brasileiros**. <http://ibge.gov.br/cidadesat/xtras/perfil.php?lang=&codmun=431740>. Acesso em 29 jan. de 2017.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal**. V. 41, Brasil, 2013. [ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Pecuaria/Producao\\_da\\_Pecuaria\\_Municipal/2013/ppm2013.pdf](ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2013/ppm2013.pdf). Acesso em 08 fev.de 2017.

ILHA, E.C. Rendimento e eficiência da fermentação alcoólica na produção de hidromel. Embrapa Pantanal, **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 84**, p. 14, 2008.

JACKMAN, E.A.; BU'LOCK, J.; KRISTIANSEN, B. **Alcohol industrial. In Biotecnología básica**. Zaragoza: Acríbia, 577p., 1991.

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

LOPES, M.F.P.D. **Bioactividade do mel: actividade antioxidante, antimicrobiana e composição.** Mestrado em bioquímica, Universidade de Lisboa, Portugal, 2010.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; DUNLAP, P.V.; CLARK, D.P. **Microbiologia de Brock.** 12. ed., Porto Alegre: Artmed, 1160 p., 2010.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; BENDER, K.S.; BUCKLEY, D.H; STHAL, D.A. **Microbiologia de Brock.** 14. ed., Porto Alegre: Artmed, 987 p., 2016.

MEDA, A., LAMIEN, C.E., ROMITO, M., MILLOGO, J., NACOULMA, O.G.. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry**, 91, 571-577, 2005.

MENDES-FERREIRA, A.; COSME, F.; BARBOSA, C.; FALCO, V.; INES, A.; MENDES-FAIA, A. Optimization of honey-must preparation and alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* for mead production. **International Journal of Food Microbiology**. 15;144(1):193-8, Nov , 2010.

MILESKI, J.P.F. **Produção e caracterização de hidromel utilizando diferentes cepas de leveduras saccharomyces.** Dissertação de mestrado, do Curso de Mestrado Profissionalizante em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, 2016.

MORETTO, E.; FETT, R.; GONZAGA, L.V.; KUSKOSKI, E.M. **Introdução á Ciência de Alimentos.** 2 ed. Ampliada e revisada, editora Universidade Federal de Santa Catarina Florianópolis, 184-185p, 2008.

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

NEWELL, G.J.; MACFARLANE, J.D. Expanded tables for multiple comparison procedures in the analisys of ranked data. **Journal of Food Science**, Chicago, p. 1721-1725, 1987.

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

PATO, O. **O vinho: Sua preparação e conservação.** Lisboa, Portugal, ed. Clássica, 9ª ed. 1992.

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

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

RAMALHOSA, E.; GOMES, T.; PEREIRA, A.T.; DIAS, T.; ESTEVINHO, L.M. Mead Production: Tradition Versus Modernity. **Food and Nutrition**, Speciality wine, V.63, p. 101-116, 2011.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

RIBEREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, D. **Handbook of enology: The chemistry of wine, stabilization and treatments**. V.2, 2<sup>a</sup> ed. John Wiley & Sons, 441p., 2006.

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J.; ABARZUA, C.. Elaboração de vinho espumante na propriedade vitícola. Bento Gonçalves: **Embrapa Uva e Vinho**, 2000.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

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, 1139-1144, 2007.

SODRÉ, G.S. **Características Físico-químicas, microbiológicas e polínicas de amostras de méis de *Apis Mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae) dos Estados do Ceará e Piauí**. Tese de doutorado apresentada a Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, p. 127, 2005.

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

WINES E VINES. **Commercial Mead Production**. 2003. Acesso em: 11 nov. de 2015 <http://www.winesandvines.com/template.cfm?section=features&content=110520>