



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Rafael Brito Baracuhy de Medeiros

**Influência da aeração do mosto nos parâmetros fermentativos de hidroméis elaborados
com mel de melato de bracatinga**

Florianópolis

2022

Rafael Brito Baracuhy de Medeiros

**Influência da aeração do mosto nos parâmetros fermentativos de hidroméis elaborados
com mel de melato de bracatinga**

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Orientadora: Profa. Dra. Carlise Beddin Fritzen Freire

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Medeiros, Rafael Brito Baracuhy de
Influência da aeração do mosto nos parâmetros
fermentativos de hidroméis elaborados com mel de melato de
bracatinga / Rafael Brito Baracuhy de Medeiros ;
orientador, Carlise Beddin Fritzen Freire, 2022.
45 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agrárias, Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos,
Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2. Hidromel. 3.
Aeração. 4. Melato de bracatinga. 5. Fermentação alcoólica.
I. Freire, Carlise Beddin Fritzen. II. Universidade
Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos. III. Título.

Rafael Brito Baracuhy de Medeiros

**Influência da aeração do mosto nos parâmetros fermentativos de hidroméis elaborados
com mel de melato de bracatinga**

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “graduado” e aprovado em sua forma final pelo Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Florianópolis, 30 de novembro de 2022.

Profa. Ana Carolina de Oliveira Costa, Dra.

Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Profa. Carlise Beddin Fritzen Freire, Dra.

Orientadora

Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Carmen Maria Olivera Müller, Dra.

Avaliadora

Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Ana Carolina Maisonnave Arisi, Dra.

Avaliadora

Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado aos meus colegas de classe e aos meus queridos pais.

AGRADECIMENTO

A UFSC se tornou uma segunda casa para mim, assim agradeço imensamente a oportunidade de realizar este trabalho e poder usar o espaço oferecido pela Universidade. Também agradeço muitíssimo a professora Carlise pela sempre disponibilidade e paciência desde a primeira fase para tirar dúvidas e passar o conhecimento sobre o tema deste trabalho, o que culminou na realização deste estudo. Agradeço ao Laboratório de Frutas e Hortaliças do CAL e as pessoas que trabalham lá, por sempre assistirem no manuseio dos equipamentos, em especial a Bruna pelo auxílio em diversas etapas deste trabalho, principalmente no final, e pela paciência de estar sempre presente para o entendimento do tema. A professora Deise pelo auxílio na contagem de leveduras e por disponibilizar o laboratório de Microscopia de Alimentos do CAL para a realização desta análise. Ao Laboratório de Compostos Bioativos (CAL) por disponibilizar a utilização da incubadora BOD e ao Laboratório de Bioquímica de Alimentos pela disponibilização do equipamento ebuliômetro. Da mesma forma, agradeço a CEDAP/EPAGRI pelo empréstimo do oxímetro, um equipamento crucial para a elaboração deste trabalho. Por fim, queria agradecer a Elisa, minha namorada, por sempre me ajudar corrigindo e me animando para continuar a sempre ser o melhor de mim, a ela o meu eterno amor.

RESUMO

O hidromel é uma bebida alcoólica obtida da diluição do mel em água e fermentada através da ação de leveduras. O Estado de Santa Catarina apresenta méis de excelente qualidade, com destaque para o mel de melato de bracinga, que é pouco utilizado para a fabricação de bebidas, apresentando grande potencial para a produção de hidromel. Além disso, são inexistentes estudos que avaliam o comportamento fermentativo do hidromel elaborado com mel de melato de bracinga, em especial a influência da aeração do mosto. Assim, esta pesquisa teve como objetivo verificar a influência da aeração em diferentes fases do processo fermentativo do hidromel, a partir da avaliação do crescimento da levedura e de alguns parâmetros físico-químicos. Foram elaboradas três formulações de hidromel, uma sem aeração (A), denominada amostra controle, e duas com aeração: (B) ao final da fase estacionária da levedura e (C) antes da inoculação da levedura. Os hidroméis foram avaliados ao longo do processo fermentativo quanto à contagem de células de levedura, pH, sólidos solúveis totais e liberação de CO₂. Ao final da fermentação (dia 28), as amostras também foram avaliadas quanto à quantidade de biomassa celular formada e o teor alcoólico das bebidas. Foi observado um aumento gradual na atividade das leveduras nos três primeiros dias de fermentação, sendo mais expressivo na amostra C (75,53%), que recebeu tratamento de aeração antes da inoculação da levedura. Por outro lado, a partir do dia 13, onde ocorreu a aeração na amostra B, foi possível observar que houve uma atividade mais expressiva para esta amostra, em especial nos dias 15 e 17 de fermentação. Todas as amostras apresentaram um decaimento gradual ao longo da fermentação dos valores de pH, SST e liberação de CO₂, comportamento já esperado devido à metabolização dos açúcares pelas leveduras e produção de compostos primários e secundários da fermentação. Além disso, as amostras que foram submetidas aos tratamentos de aeração (B e C) apresentaram ao final do processo maior teor alcoólico, além de valores superiores de peso de biomassa celular de levedura, em comparação à amostra controle (A). Assim, pode-se concluir que a aeração dos mostos afetou positivamente os parâmetros fermentativos dos hidroméis produzidos com mel de melato de bracinga.

Palavras-chave: bebida fermentada; fermentação alcoólica; mel de melato de bracinga; hidromel.

ABSTRACT

Mead is an alcoholic beverage obtained from the dilution of honey in water and fermented through the action of yeast. The State of Santa Catarina has excellent quality honeys, especially bracinga honeydew honey, which is poorly exploited for the manufacture of beverages, presenting great potential for the production of mead. Furthermore, there are no studies evaluating the fermentation behavior of mead produced with bracinga honeydew honey, especially the influence of mash aeration. Thus, this research aims to verify the influence of aeration in different phases of the mead fermentation process, by evaluating the yeast growth and some physicochemical parameters. Three mead formulations were prepared, one without aeration (A) control sample, and two with aeration: (B) at the end of the stationary phase of the yeast and (C) before the yeast inoculation. The meads were evaluated throughout the fermentation process for yeast cell counts, pH, total soluble solids, and CO₂ release. At the end of the fermentation (day 28), the samples were also evaluated for the amount of cellular biomass formed and alcohol content of the beverages. A gradual increase in yeast activity was observed in the first three days of fermentation, being more expressive in sample C (75.53%), which received aeration treatment before yeast inoculation. On the other hand, from day 13, where aeration occurred in sample B, it was possible to observe that there was a more expressive activity for this sample, especially on days 15 and 17 of fermentation. All the samples presented a gradual decrease throughout the fermentation of the values of pH, TSS, and CO₂ release, a behavior already expected due to the metabolization of sugars by the yeast and the production of primary and secondary compounds of the fermentation. Moreover, the samples that were subjected to aeration treatments (B and C) presented higher alcohol content at the end of the process, in addition to higher values of yeast cell biomass weight, compared to the control sample (A). Thus, it can be concluded that the aeration of the musts positively affected the fermentative parameters of the meads produced with bracinga honeydew honey.

Keywords: fermented beverage; alcoholic fermentation; bracinga honeydew honey; mead.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Leveduras em estado de brotamento (ou gemulação).....	22
Figura 2 – Esquema do metabolismo da fermentação alcoólica realizado pelas leveduras do gênero <i>Saccharomyces</i> , com destaque para formação de etanol a partir do piruvato.....	24
Figura 3 – Processo de aeração do mosto C (aeração pré-inoculação do fermento).....	29
Figura 4 – Fermentadores dentro da incubadora BOD no primeiro dia de fermentação.....	31
Figura 5 - Contagem de leveduras (Log células/mL) durante o processo fermentativo das bebidas.....	35
Figura 6 - Imagem microscópica da contagem das leveduras em câmara de Neubauer.....	36
Figura 7 - Acompanhamento do pH no decorrer dos dias da fermentação dos hidroméis.....	38
Figura 8 - Acompanhamento do teor de sólidos solúveis totais durante a fermentação dos hidroméis.....	39
Figura 9 - Acompanhamento da liberação de CO ₂ ao longo do processo fermentativo dos hidroméis.....	40

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Denominações de hidroméis de acordo com os ingredientes adicionais utilizados.....	20
Quadro 2 – Diferentes tratamentos de aeração nos mostos de hidromel.....	29
Quadro 3 – Análises realizadas nos hidroméis.....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Acompanhamento do percentual de células de leveduras ativas e inativas durante o processo fermentativo das amostras de hidromel.....	34
Tabela 2 - Peso da biomassa celular e teor alcoólico dos hidroméis.....	41

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	OBJETIVOS.....	16
1.1.1	Objetivo Geral.....	16
1.1.2	Objetivos Específicos.....	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
2.1	MEL.....	18
2.2	HIDROMEL.....	20
2.3	LEVEDURAS.....	21
2.4	FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA.....	23
2.4.1	Aeração no processo fermentativo.....	26
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1	ELABORAÇÃO DOS MOSTOS E FERMENTAÇÃO DO HIDROMEL.....	28
3.2	CONTAGEM DE LEVEDURAS.....	31
3.3	pH E SST.....	31
3.4	DETERMINAÇÃO DA BIOMASSA CELULAR DAS LEVEDURAS.....	32
3.5	DETERMINAÇÃO DO TEOR ALCOÓLICO.....	32
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1	CONTAGEM DE LEVEDURAS.....	33
4.2	pH E SST.....	37
4.3	LIBERAÇÃO DE CO ₂	40
4.4	BIOMASSA CELULAR E TEOR ALCOÓLICO.....	41
5	CONCLUSÃO.....	43
	REFERÊNCIAS.....	44

1 INTRODUÇÃO

O mel é o produto mais conhecido da apicultura e as suas características dependem das particularidades da área geográfica de produção e da origem botânica das matérias-primas (RODRÍGUEZ-FLORES *et al.*, 2019). É um produto muito consumido e amplamente reconhecido por suas propriedades nutricionais e funcionais (ISLA *et al.*, 2011), apresentando como componentes majoritários os carboidratos, com destaque para a glicose e a frutose (BERTONCELJ *et al.*, 2011; ETERAF-OSKOU EI; NAJAFI, 2013). De acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2000), o mel pode ser classificado quanto à sua origem em mel floral, produzido pelas abelhas a partir do néctar de flores, ou em mel de melato, obtido a partir das secreções de partes vivas de plantas ou excreções de insetos sugadores de plantas.

O Estado de Santa Catarina se destaca pela qualidade dos seus méis, dentre os quais o mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) tem despertado o interesse dos consumidores, pois é nativo da região Sul é considerado uma importante fonte de polifenóis e minerais (SERAGLIO *et al.*, 2017). Este tipo de mel provém do caule de bracatinga e apresenta como diferencial maiores valores de pH, cinzas, ácidos orgânicos alifáticos e menores teores de açúcares redutores em comparação ao mel floral (BRUGNEROTTO *et al.*, 2019; PITA-CALVO; VÁZQUEZ, 2017). Com isso, surge o interesse de aplicar esta matéria-prima em diferentes produtos, incluindo as bebidas fermentadas.

O hidromel é a bebida fermentada com graduação alcoólica de 4 a 14% em volume, a 20 °C, obtida pela fermentação alcoólica de solução de mel de abelha, sais nutrientes e água potável (BRASIL, 2009), sendo considerada a bebida fermentada mais antiga da história, com relatos de fabricação anteriores à cerveja e ao vinho (PIATZ, 2014). Apesar do hidromel ser produzido desde a antiguidade em várias regiões do mundo, principalmente nos países Nórdicos e na Europa Oriental, esta bebida vem apresentando nos últimos anos um importante crescimento no mercado global de bebidas alcoólicas (SCHWARZ *et al.*, 2020). No entanto, o processo fermentativo da bebida é dependente de alguns fatores, como as cepas de levedura utilizadas, características químicas do mel, além das condições de fermentação, principalmente temperatura do processo, nutrição e aeração do meio (RAMALHOSA *et al.*, 2011), que irão determinar o desenvolvimento da levedura durante a fermentação (SCHWARZ *et al.*, 2020). Vale destacar que o hidromel ainda é produzido na sua maioria de

forma empírica e artesanal, com poucas pesquisas científicas em comparação às outras bebidas alcoólicas (PEREIRA *et al.*, 2017).

Estudos na área de fermentação alcoólica, principalmente com vinhos e cervejas, têm demonstrado que a limitação de oxigênio no mosto exerce uma elevada pressão seletiva durante o processo de fermentação, e que as leveduras do gênero *Saccharomyces* são fortemente dependentes da disponibilidade de oxigênio (MORALES *et al.*, 2015; SHEKHAWAT; BAUER; SETATI, 2017). Alguns estudos em vinhos avaliaram o impacto do oxigênio dissolvido no mosto e demonstraram a influência positiva da aeração na fisiologia celular das leveduras durante a fermentação (BRANDAM *et al.*, 2013; VARELA *et al.*, 2012). Além de afetar a dinâmica populacional, a aeração do mosto também influenciou na produção de compostos voláteis, especialmente ésteres e álcoois superiores (MORALES *et al.*, 2015; VALERO *et al.*, 2002). Sendo assim, estudos que visam compreender os fatores que afetam o comportamento fermentativo do hidromel, em especial a influência da aeração do mosto, ainda são inexistentes, mas de fundamental importância para o aprimoramento da qualidade desta bebida.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho foi verificar a influência da aeração do mosto nos parâmetros fermentativos de hidroméis elaborados com mel de melato de bracatinga.

1.1.2 Objetivos Específicos

a) elaborar três formulações de hidromel com mel de melato de bracatinga, uma sem aeração (A), denominada amostra controle, e duas com aeração: (B) ao final da fase estacionária da levedura e (C) antes da inoculação da levedura;

b) acompanhar o processo fermentativo dos hidroméis, coletando periodicamente amostras para avaliar o número de células de levedura, pH, sólidos solúveis totais (SST) e liberação de CO₂;

c) determinar ao final do processo, além do número de células de levedura, pH, sólidos solúveis totais (SST) e liberação de CO₂, a quantidade de biomassa celular formada e o teor alcoólico das bebidas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MEL

O mel é um alimento produzido por abelhas melíferas, sendo um produto do néctar das flores, secreções de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas, onde as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colmeia (BRASIL, 2000).

De acordo com Gois *et al.* (2013), o mel é constituído por diferentes açúcares, principalmente os monossacarídeos glicose e frutose, além de outros constituintes em menores concentrações, incluindo proteínas, vitaminas, aminoácidos, enzimas, ácidos orgânicos e substâncias minerais. A composição do mel está relacionada à sua origem botânica e geográfica, condições climáticas, estágio de maturação, espécie de abelha e pode sofrer alterações significativas de acordo com o processamento, tempo e condições de armazenamento (SANTOS-BUELGA; GONZÁLEZ-PARAMÁS, 2017).

Nos povos mais antigos, o mel era um ingrediente utilizado no dia a dia, assim era normal a sua coleta e consumo, sendo empregado em diferentes receitas, curativos e banhos (MORAES, 2018). Além disso, o mel é um alimento reconhecido pelos seus benefícios à saúde devido às propriedades terapêuticas, sendo muito empregado na área farmacêutica e alimentar (BORGES *et al.*, 2021). Dentre as propriedades terapêuticas destacam-se as atividades antimicrobianas, cicatrizantes e antioxidantes (SPITERI *et al.*, 2017). Segundo Alvarez-Suarez *et al.* (2013), o mel é uma fonte de antioxidantes naturais, devido a sua composição de polifenóis na forma de flavonoides e ácidos fenólicos, sendo os flavonoides os mais abundantes e intimamente relacionados às funções biológicas. Havendo uma variância dos efeitos antioxidantes do mel devido aos diferentes perfis qualitativos e quantitativos de seus compostos bioativos relatados (NAYAKA *et al.*, 2020). Além disso, há estudos que mostram efeitos antiproliferativos e antimetastático em tumores cerebrais (BORGES *et al.*, 2021). Na área cosmética o mel tem sido empregado devido à capacidade antioxidante e protetora da pele (GALEMBECK; CSORDAS, 2022). No quesito alimentar, o mel é um alimento versátil, tradicionalmente utilizado como adoçante (MORAES, 2018), que pode ser consumido *in natura* ou utilizado como ingrediente em outras preparações (AKALIN; BAYRAM; ANLI, 2017).

Segundo a legislação brasileira (BRASIL, 2000), o mel pode ser classificado conforme os procedimentos de obtenção do mel do favo e de apresentação (líquido, cristalizado, parcialmente cristalizado). Esta legislação também classifica o produto pela sua origem botânica em: mel floral, tal como mel de laranjeira, eucalipto e silvestre; ou mel de melato. O mel floral é aquele pelo qual as abelhas produzem a partir do néctar das flores, e o mel de melato deriva de secreções de partes vivas das plantas ou ainda excreções de insetos que aproveitam as secreções da planta (BRASIL, 2000). Vale destacar que a origem botânica tem um grande impacto nas propriedades sensoriais, físico-químicas e bioativas de méis, sendo crucial para determinar a sua autenticidade e valor comercial (KORTESNIEMI *et al.*, 2018).

O estado de Santa Catarina destaca-se pela excelente qualidade dos méis, em especial o mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) que é nativo da região e apresenta-se como uma importante fonte natural de polifenóis e minerais bioacessíveis (SERAGLIO *et al.*, 2017). Em Santa Catarina o mel de melato é comumente obtido do caule de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham), que corresponde ao ciclo das cochonilhas (CAMPOS *et al.*, 2003). O mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) é um produto genuinamente brasileiro, que tem atraído cada vez mais consumidores no mercado nacional e especialmente internacional (BRUGNEROTTO *et al.*, 2019). Em 2021 o mel de melato de bracatinga do Planalto Sul brasileiro conquistou o selo de Indicação Geográfica (IG), concedido pelo Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI). Este selo reconhece o mel produzido em uma área delimitada, que engloba 134 municípios da Região Sul do Brasil, sendo que 107 são municípios catarinenses e representam 45% da área do estado (AMURES, 2022).

Esse mel possui algumas peculiaridades como a produção em períodos semestrais, correspondente ao ciclo de vida dos insetos sugadores de plantas, como o *Tachardiella* sp. que infesta a *Mimosa scabrella* Bentham (geralmente de janeiro a junho), se alimentando do floema das árvores e liberando exsudatos açucarados utilizados pelas abelhas *Apis mellifera* (SERAGLIO *et al.*, 2016; CARLS *et al.*, 2019). Essa associação faz com que o produto seja tão especial. Produzido pelas abelhas, em épocas de escassez de néctar, esse fenômeno ocorre apenas em regiões com altitudes acima de 700 metros no Planalto Sul Brasileiro (CARLS *et al.*, 2019). Em comparação ao mel floral, o mel de melato apresenta maiores valores de pH, de cinzas e de condutividade elétrica (MARIANO-DA-SILVA; MARIANO-DA-SILVA;

COSTA-NETTO, 2011), além de uma cor mais escura (PITA-CALVO; VÁZQUEZ, 2017), maior teor de ácidos orgânicos alifáticos (BRUGNEROTTO *et al.*, 2019) e menor teor de açúcares redutores (PITA-CALVO; VÁZQUEZ, 2017). Nesse sentido, os méis de origem não floral, como os méis de melato, têm despertado o interesse dos pesquisadores (BERGAMO *et al.*, 2019; BRUGNEROTTO *et al.*, 2019; SERAGLIO *et al.*, 2019), principalmente pela sua composição química e potencialidade de aplicação em diferentes produtos, incluindo a elaboração do hidromel.

2.2 HIDROMEL

A legislação brasileira, através do Decreto nº 6871 de 4 de julho de 2009, estabelece que o hidromel é a bebida com 4 a 14% de etanol, obtida pela fermentação alcoólica de mel de abelha, água potável e sais nutrientes (BRASIL, 2009). O teor alcoólico do hidromel está diretamente relacionado à quantidade de açúcar no mosto, e isto determinará o tipo de hidromel a ser elaborado (MORALES; ALCARDE; ANGELIS, 2013), podendo ser classificado como seco, meio seco ou suave. Quanto aos padrões de identidade e qualidade, o hidromel deve seguir a Instrução Normativa nº 34, de 29 de novembro de 2012 (BRASIL, 2012).

Em diferentes países é comum a adição de outros ingredientes à bebida, como frutas e ervas, visando modificar as suas propriedades nutritivas e sensoriais (ADAMENKO *et al.*, 2018; GUPTA; SHARMA, 2009; KAWA-RYGIELSKA *et al.*, 2019). Destarte, o hidromel recebe diferentes nomenclaturas de acordo com os ingredientes utilizados, conforme demonstrado no Quadro 1.

Quadro 1 - Denominações de hidroméis de acordo com os ingredientes adicionais utilizados.

Denominação	Ingredientes
Hidromel	Água e mel
<i>Melomel</i>	Com adição de frutas (exceto uva e maçã)
<i>Pymment</i>	Com adição de uvas
<i>Cyser</i>	Com adição de maçãs
<i>Bragoot</i>	Com adição de malte

Fonte: Adaptado de Venturini Filho (2010).

Para Czabaj *et al.* (2017) o processo de fermentação do hidromel é desafiador e depende de vários fatores, incluindo a qualidade do mel e dos demais ingredientes, como a água, frutas e especiarias. Além disso, estes autores também relatam que a alta gravidade específica do mosto e sua baixa capacidade tamponante faz com que a fermentação seja mais lenta em comparação a outras bebidas alcoólicas. Segundo Mendes-Ferreira *et al.* (2010), em alguns países a fermentação alcoólica ocorre de forma natural/espontânea por microrganismos selvagens que fazem parte da microbiota do mel, ou que estão presentes em equipamentos utilizados na produção do fermentado. No entanto, a fermentação sem adição de uma cultura específica (*starter*), pode acarretar em um produto indesejável, devido à competição do substrato por microrganismos não desejados no meio, diminuindo a produção de etanol e CO₂, podendo ocasionar odores e sabores desagradáveis à bebida. Para Iglesias *et al.* (2014), a seleção da levedura desempenha um papel-chave na fermentação deste tipo de bebida, pois influencia na eficiência da conversão do açúcar em etanol, sendo que as leveduras do gênero *Saccharomyces*, também empregadas na produção de vinho e cerveja, são as mais empregadas para a produção de hidromel.

2.3 LEVEDURAS

As leveduras pertencem ao Reino *Funghi* e são microrganismos unicelulares, de forma arredondada, anaeróbios facultativos, sendo responsáveis pelo processo fermentativo de vários produtos além do hidromel, em especial as leveduras do gênero *Saccharomyces* (ADAMENKO *et al.*, 2018). As células de levedura possuem parede celular rígida, que confere resistência às pressões osmóticas e mecânicas, sendo constituídas, sobretudo por polissacarídeos, principalmente quitina, podendo ainda apresentar proteínas e lipídeos (PASTORE; BICAS; MARÓSTICA JÚNIOR, 2013).

Carvalho, Bento e Silva (2006) relatam que as leveduras são consideradas organismos que apresentam taxa reprodutiva maior do que os bolores, sendo mais eficientes nas transformações bioquímicas devido a sua maior relação de área e volume. Estes autores ainda destacam que as células das leveduras do gênero *Saccharomyces* são elípticas, medindo cerca de 6 a 8 µm de comprimento por 5 µm de largura, e se reproduzem assexuadamente por brotamento (ou gemulação). Durante o processo de brotamento, o núcleo se divide por

construção e uma porção dele entra no broto juntamente com outras organelas (Figura 1). A conexão citoplasmática é fechada pela síntese de novo material de parede celular.

Figura 1 – Leveduras em estado de brotamento (ou gemulação).



Fonte: Adaptado de Nitzke (2022)

As leveduras produzem diferentes produtos como resultado do seu metabolismo, sendo altamente dependentes das condições ambientais, de cultivo e dos nutrientes disponíveis no meio. O controle das vias metabólicas pela regulação de nutrientes e condições de processo é uma importante consideração na área de fermentação. Como exemplo, as leveduras do gênero *Saccharomyces* produzem etanol em anaerobiose e biomassa quando é fornecido oxigênio (BASTOS, 2010).

No processo de fermentação de hidromel são mais comumente utilizadas cepas de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e/ou *Saccharomyces bayanus*, estas leveduras são utilizadas como culturas *starter*; e dependendo do fornecedor poderão ser apresentadas na versão liofilizada ou líquida (MORAES, 2018). Apesar destes gêneros e espécies serem os mais utilizados, têm se observado nos últimos anos alguns estudos que empregaram leveduras não *Saccharomyces* (BARRY *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2020), propondo melhoria das características sensoriais do hidromel (ARAÚJO *et al.* 2020; LOPES *et al.*, 2020).

Parapouli *et al.* (2020) relatam que a *Saccharomyces cerevisiae* é a levedura mais utilizada em aplicações alimentares, principalmente devido a elevada eficiência de conversão de glicose em etanol. Em contrapartida, o etanol rapidamente produzido, se acumula no meio

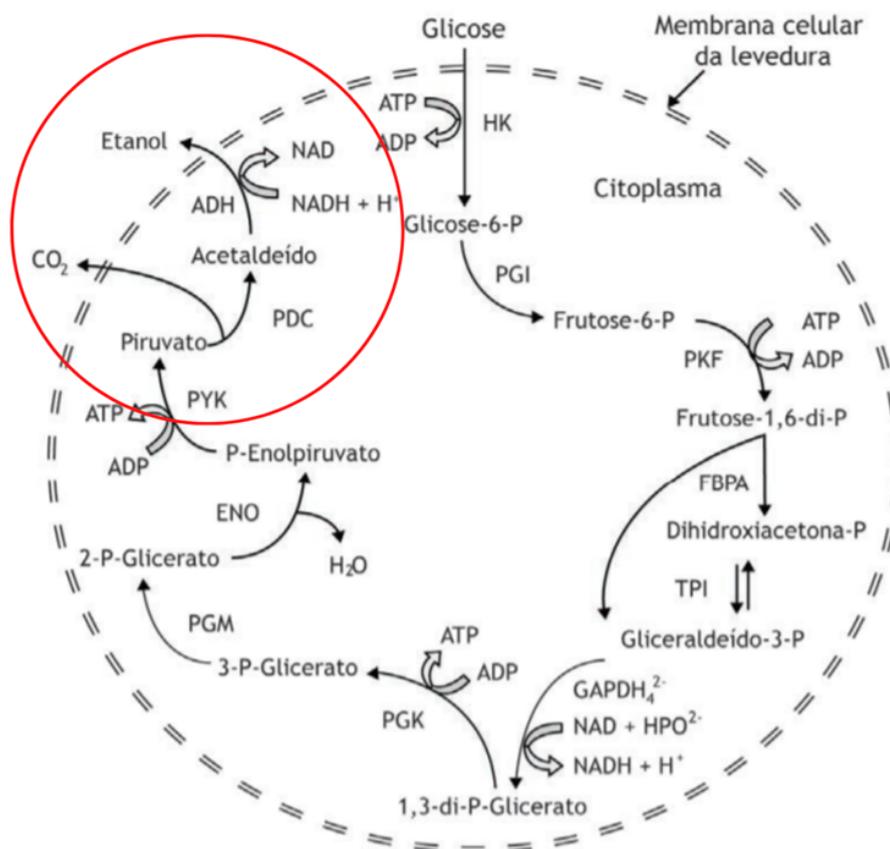
e cria um meio tóxico para a grande maioria destes microrganismos. A *S. cerevisiae* tem aplicação em vários setores industriais, tanto em bebidas alcoólicas, etanol combustível e na panificação. Por outro lado, Januszek *et al.* (2020) relatam que a espécie *Saccharomyces bayanus* têm sido cada vez mais empregada na fermentação de bebidas alcoólicas devido a esta espécie apresentar maior capacidade de sintetizar compostos voláteis, melhorando as propriedades sensoriais das bebidas.

De acordo com Sroka e Tuszyński (2007), as características genéticas, a fisiologia celular, a disponibilidade nutricional e as condições físicas são parâmetros a serem considerados na escolha da levedura para a fermentação. Ainda há o embasamento que a baixa disponibilidade de nitrogênio no mosto tende a afetar o desenvolvimento das leveduras e que uma forma de auxiliar o seu crescimento seria através da adição de sais nutrientes no meio (MENDES-FERREIRA *et al.*, 2010). Além disso, outros fatores como temperatura, concentração de açúcares, pH e condições gasosas no meio influenciam diretamente o crescimento das leveduras e conseqüentemente o processo fermentativo do hidromel.

2.4 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

A concentração de açúcares e de oxigênio no sistema de fermentação orienta o metabolismo da levedura, sendo a glicose a principal fonte de carbono e energia para os microrganismos. Através da via respiratória quando o oxigênio está presente no meio, as leveduras oxidam os açúcares em dióxido de carbono produzindo energia na forma de adenosina tri-fosfato (ATP). Essa molécula rica em energia, produzida pela regeneração de diferentes cofatores é sintetizada em um processo de desgaste energético de elétrons, que contam com o oxigênio como receptor final na cadeia respiratória (VENTURINI FILHO, 2010). Já no processo fermentativo, as leveduras seguem a “Via glicolítica” ou “Via Embden-Meyerhof-Parnas (EMP)”, sendo geradas ao final do processo duas moléculas de piruvato, que serão convertidas a etanol, sob ação de enzimas específicas (BASTOS, 2010). A Figura 2 mostra um esquema gráfico do metabolismo da fermentação alcoólica realizado pelas leveduras do gênero *Saccharomyces*.

Figura 2 – Esquema do metabolismo da fermentação alcoólica realizado pelas leveduras do gênero *Saccharomyces*, com destaque para formação de etanol a partir do piruvato.



Fonte: Adaptado de Bastos (2010).

De acordo com Nelson e Cox (2014) para a formação do piruvato ocorre inicialmente a clivagem da glicose e a sua transformação em dez etapas, sendo as primeiras cinco etapas consideradas como a fase preparatória e as últimas cinco etapas, a fase de recompensa. A fase preparatória consiste na fosforilação da glicose que será posteriormente convertida em frutose fosfatada onde é novamente fosforilada. Neste ponto, a molécula de frutose-1,6-bifosfato é dividida em duas moléculas de três carbonos que por fim é isomerizada a molécula gliceraldeído-3-fosfato. Já na segunda fase ocorre a formação energética utilizada na fase anterior. Os autores expõem que o produto da fase preparatória é oxidado e fosforilado formando 1,3-difosfoglicerato que libera energia nas transformações para piruvato. Na sequência, ocorre a obtenção do acetaldeído através da descarboxilação de cada molécula de piruvato, liberando gás carbônico, sendo posteriormente reduzido a etanol, pela enzima

álcool-desidrogenase, ao mesmo tempo em que acontece a oxidação da coenzima NADH (MÄRGÄOAN *et al.*, 2020).

Além disso, a adição/presença de oxigênio no meio fermentativo pode mudar o metabolismo central das leveduras, promovendo um fenômeno metabólico chamado de “efeito *Crabtree*”, onde a glicose presente no sistema inibe a respiração celular, favorecendo a via glicolítica. Esse comportamento é observado em diferentes espécies de leveduras, incluindo a *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces bayanus* (culturas *Crabtree*-positivas), que em condições de aerobiose e presença de alta concentração de glicose produzem etanol ao invés de biomassa e CO₂ (ALBERGARIA; ARNEBORG, 2016). Várias hipóteses têm sido sugeridas para explicar esse fenômeno, como a repressão catabólica das enzimas respiratórias, um gargalo do fluxo de carbono para o ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) é uma limitação das enzimas respiratórias da levedura para reoxidar o NADH produzido pela glicólise. Em todos os casos, o carbono é canalizado para a biossíntese de etanol no citosol (ACEITUNO *et al.* 2012). Assim, as condições do meio irão determinar as vias metabólicas utilizadas pelas leveduras.

O processo fermentativo pode ser dividido em três etapas: fase preliminar (fase *lag*), correspondente ao período de adaptação da levedura ao meio, pequena elevação da temperatura e baixo desprendimento de CO₂; fase intermediária ou tumultuosa, caracterizada pelo desprendimento volumoso de CO₂, aumento da temperatura e produção de etanol (fases *vlog* e estacionária); e fase complementar, onde é identificada uma diminuição abrupta da fermentação (inativação celular), com redução da intensidade do desprendimento de CO₂ uma vez que praticamente todo o substrato já foi convertido em etanol (LIMA *et al.*, 2001).

Além disso, Pereira *et al.* (2017) destaca a importância dos ingredientes empregados, do tipo de diluição e do tipo de levedura do meio no tempo de fermentação. Ainda destaca a temperatura de fermentação, onde deve preferencialmente ser mantida entre 20° e 30 °C para uma boa condução do processo. Segundo Ceccato-Antonini (2012), a temperatura da fermentação tem como principal objetivo a ativação das leveduras, acelerando a multiplicação celular e por consequência a formação de etanol. O progresso da fermentação pode ser monitorado visualmente, observando a taxa de evolução do CO₂, mas de forma mais confiável determinando a contagem de leveduras e o teor de açúcares consumidos durante o processo (MÄRGÄOAN *et al.*, 2020). Por fim, outro fator importante a ser considerado na fermentação

alcoólica é a quantidade de oxigênio dissolvido no mosto e de que forma esse parâmetro pode interferir no processo fermentativo.

2.4.1 Aeração no processo fermentativo

Pesquisas na área da fermentação alcoólica têm demonstrado que a limitação de oxigênio no mosto exerce uma elevada pressão seletiva durante o processo de fermentação, e que as leveduras do gênero *Saccharomyces* são fortemente dependentes da disponibilidade de oxigênio (MORALES *et al.*, 2015; SHEKHAWAT; BAUER; SETATI, 2017).

Relatos no campo da enologia e das cervejarias demonstram um efeito favorável de adições de oxigênio sobre a cinética das fermentações alcoólicas, com influência no desenvolvimento e conservação de uma boa viabilidade das leveduras (capacidade reprodutiva) e uma boa vitalidade (capacidade de produzir energia). Isto se torna relevante para a síntese de esteróis e ácidos graxos insaturados, constituintes da membrana plasmática, imprescindíveis para o crescimento celular (VENTURINI FILHO, 2010). Assim, o momento adequado e a quantidade de aeração do sistema são critérios importantes para atingir os resultados esperados.

Em vinhos brancos não é usual adicionar oxigênio antes do inóculo das leveduras, quando muitas enzimas oxidativas podem estar ativas nas frutas e aumentar o risco de oxidação dos constituintes do mosto (DAY *et al.*, 2015). O conceito de adição de oxigênio às fermentações de vinhos tem sido mais associado à vinificação de tintos, por meio de bombeamento em diferentes etapas do processo, em especial nas remontagens, onde as concentrações de oxigênio dissolvido podem atingir temporariamente até 100 μM (ACEITUNO *et al.*, 2012).

Em cervejarias a prática de aeração do mosto é comum, para obter uma concentração de oxigênio dissolvido na faixa de 20 ppm no tanque de fermentação (VENTURINI FILHO, 2010). Segundo a empresa Lev Teck (2022), especializada em propagação de leveduras, a oxigenação no início da fermentação proporciona uma fermentação vigorosa, mais rápida e com leveduras saudáveis. Neste mesmo sentido, Moraes (2018) relata, no âmbito da produção artesanal de hidromel, que a falta de oxigenação no mosto pode resultar em fermentações mais lentas devido ao estresse da levedura.

De acordo com Venturini Filho (2010) o momento ótimo de adição de oxigênio no mosto de vinho seria entre o primeiro quarto até a metade da fermentação alcoólica. Além disso, Day *et al.* (2015) relatam que do ponto de vista prático, a adição de oxigênio no final da fase de crescimento exponencial da levedura poderia ser eficaz na estimulação do processo de fermentação, sendo que a adição de 5 a 10 mg de O₂/L de mosto parece ser suficiente para um bom crescimento do microrganismo. Estes autores também afirmam que aproximadamente 30% do oxigênio adicionado ao final da fase estacionária da fermentação de *S. cerevisiae* é usado na produção de lipídios, e que esse consumo é interessante para manter as taxas de fermentação elevadas.

Alguns estudos em vinhos avaliaram o impacto do oxigênio dissolvido no mosto e demonstraram a influência positiva da aeração na fisiologia celular das leveduras durante a fermentação (BRANDAM *et al.*, 2013; VARELA *et al.*, 2012). Além de afetar a dinâmica populacional, o oxigênio também influenciou na produção de compostos voláteis, especialmente ésteres e álcoois superiores (MORALES *et al.*, 2015; VALERO *et al.*, 2002).

Como demonstrado, algumas pesquisas têm avaliado o efeito da aeração no processo fermentativo de bebidas alcoólicas. Contudo, pouco se sabe sobre os efeitos da aeração no hidromel, e desta forma, este trabalho pretende compreender as possíveis interferências deste tratamento na bebida em diferentes etapas do processo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ELABORAÇÃO DOS MOSTOS E FERMENTAÇÃO DO HIDROMEL

Os mostos foram elaborados de acordo com a metodologia proposta por Roldán *et al.* (2011), com modificações. Mel de melato de bracinga comercial (Apiários Real, São Joaquim, Brasil) (*Apis mellifera*), com cerca de 80 °Brix, foi diluído em água mineral (Imperatriz, Santo Amaro da Imperatriz, Brasil) até se obter um mosto inicial com cerca de 22 °Brix. Metabissulfito de potássio (50 mg/L) foi adicionado como agente conservador. Na sequência, o mosto inicial foi dividido em três fermentadores de vidro, contendo 1000 mL de mosto em cada fermentador. Antes de iniciar o processo fermentativo, a cultura comercial de *Saccharomyces bayanus* (Premier Blanc, Red Star, Bélgica) (1 g/L, preparada conforme a recomendação do fabricante) foi inoculada em dois fermentadores distintos (A e B), na sequência foram vedados com rosca de silicone acoplada com airlock, gerando a anaerobiose no sistema. O fermentador A, denominado controle, não recebeu nenhum tratamento de aeração. O fermentador B, ao final da fase estacionária da levedura (13 dias de fermentação), foi aberto e recebeu aeração por 60 minutos no mosto, utilizando uma bomba difusora de ar (BOYU U-2800, China, vazão 2L/min) até atingir máxima saturação de oxigênio (70%), que foi mensurada através de um oxímetro (AT 155, Alfakit, Brasil). Já no terceiro fermentador, denominado C, o mosto foi submetido a um processo de aeração em um béquer antes da adição da levedura, nas mesmas condições mencionadas para o fermentador B, até atingir máxima saturação de oxigênio (70%) e na sequência o sistema foi fechado e iniciou-se a fermentação (VARELA *et al.* 2012). Assim, foram obtidas três diferentes condições de fermentação dos mostos, conforme apresentado no Quadro 2.

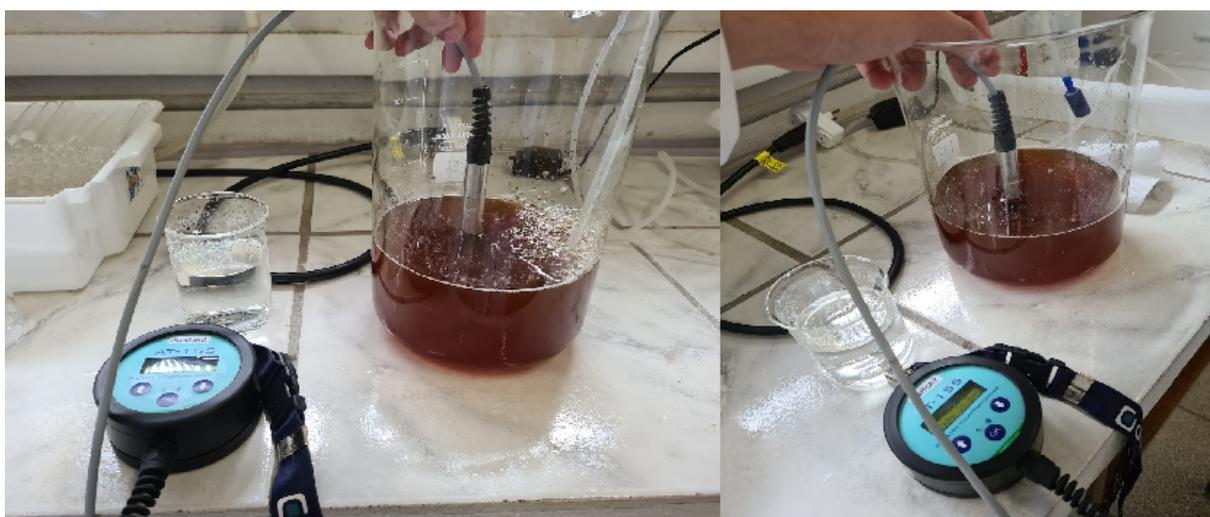
Quadro 2 – Diferentes tratamentos de aeração nos mostos de hidromel.

Mostos	Inoculação da levedura	Aeração
A	conforme fabricante	controle, sem aeração inicial
B	conforme fabricante	aeração até saturação de OD (70%), ao final da fase estacionária
C	conforme fabricante, após aeração	aeração pré-inoculação do fermento, até saturação de OD (70%)

Fonte: Próprio autor (2022). OD = oxigênio dissolvido

A Figura 3 mostra o processo de aeração realizado no mosto C, sendo que esse mesmo processo foi repetido no 13º dia de fermentação para o mosto B.

Figura 3 - Processo de aeração do mosto C (aeração pré-inoculação do fermento).



Fonte: Próprio autor (2022)

O processo fermentativo foi realizado em incubadora BOD (TE-371, Tecnal, Piracicaba, Brasil) a 22 °C, sendo monitorada a quantidade de CO₂ liberada dos fermentadores, através da pesagem dos mesmos e calculada pela diferença de peso deles entre os dias avaliados (YANG *et al.*, 2021). A fermentação foi considerada concluída quando os valores de sólidos solúveis totais (SST) atingiram níveis constantes e o percentual de células inativas superou o de ativas. Ao longo da fermentação (dias 0, 3, 6, 9, 13, 15, 17, 20, 23 e 28) foram avaliados os seguintes parâmetros: contagem das células das leveduras, pH, SST e

liberação de CO₂. Ao final do processo também foram avaliados a biomassa celular formada e o teor alcoólico das bebidas. As análises mencionadas neste tópico estão apresentadas no Quadro 3.

Quadro 3 – Análises realizadas nos hidroméis.

Início da Fermentação	Durante a Fermentação	Final da Fermentação
Contagem das leveduras	Contagem das leveduras	Contagem das leveduras
pH	pH	pH
Sólidos Solúveis Totais	Sólidos Solúveis Totais	Sólidos Solúveis Totais
Liberção de CO ₂	Liberção de CO ₂	Liberção de CO ₂
-	-	Biomassa celular
-	-	Teor alcoólico

Fonte: Próprio autor (2022)

A Figura 4 mostra os três fermentadores dentro da incubadora BOD no primeiro dia de fermentação, onde já é possível visualizar o início da produção de CO₂.

Figura 4 - Fermentadores dentro da incubadora BOD no primeiro dia de fermentação.



Fonte: Próprio autor (2022)

3.2 CONTAGEM DE LEVEDURAS

A avaliação da contagem de células das leveduras foi realizada segundo a metodologia proposta por Roldán *et al.* (2011), utilizando uma Câmara de Neubauer com visualização em microscópio óptico. Empregou-se uma solução de azul de metileno (2%) para identificar as células ativas (com aspecto transparente ou semi-transparente), das não ativas (com preenchimento da célula pelo azul de metileno).

3.3 pH E SST

Os valores de pH foram determinados por potenciômetro (MP220, Metler-Toledo), enquanto o teor de sólidos solúveis totais (SST) foi quantificado em refratômetro (medidor

portátil de Brix 90, Mettler Toledo, Suíça) e expressos em °Brix. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.4 DETERMINAÇÃO DA BIOMASSA CELULAR DAS LEVEDURAS

A biomassa seca foi determinada consoante a metodologia proposta por Shekhawat, Bauer e Setati (2017), separando as células de levedura dos hidroméis por centrifugação a $2880\times g$ por 10 min em tubos previamente pesados. Em seguida, a biomassa foi seca a 90 °C, até peso constante.

3.5 DETERMINAÇÃO DO TEOR ALCOÓLICO

O teor alcoólico dos hidroméis foi determinado em duplicata, de acordo com a metodologia proposta pela Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV, 2012).

3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram expressos como média \pm desvio padrão. A análise de variância (ANOVA fatorial) com 5% de significância foram empregados para verificar a existência de diferenças significativas entre as amostras. A análise dos dados foi realizada utilizando o *software* STATISTICA versão 13.3 (TIBCO Inc., Palo Alto, EUA).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste tópico serão discutidos os resultados obtidos para as amostras de hidromel submetidas a diferentes tratamentos de aeração (amostras A, B e C). O processo de fermentação teve início no dia 30 de agosto de 2022, finalizando após 28 dias, na data de 27 de setembro de 2022. As amostras foram avaliadas nos dias 0, 3, 6, 9, 13, 15, 17, 20, 23 e 28 da fermentação quanto à contagem das células das leveduras, pH, SST e liberação de CO₂. No entanto, os dados do dia 20 foram excluídos das tabelas e figuras por serem constatadas inconsistências nos resultados, provavelmente devido a erros experimentais.

4.1 CONTAGEM DE LEVEDURAS

A Tabela 1 apresenta os dados da contagem de leveduras no processo fermentativo, a partir do acompanhamento do percentual de células ativas (vivas) e inativas (mortas).

Tabela 1 - Acompanhamento do percentual de células de leveduras ativas e inativas durante o processo fermentativo das amostras de hidromel.

Dias	Mosto A		Mosto B		Mosto C	
	Leveduras ativas (%)	Leveduras inativas (%)	Leveduras ativas (%)	Leveduras inativas (%)	Leveduras ativas (%)	Leveduras inativas (%)
0	56,86	43,14	54,96	45,035	54,04	45,96
3	67,57	32,43	71,11	28,89	75,53	24,47
6	79,83	20,17	72,71	27,29	73,02	26,28
9	70,92	29,08	68,48	31,52	71,96	28,04
13	64,89	35,10	60,38	39,62	65,16	34,84
15	69,48	30,52	71,44	28,56	69,49	30,51
17	63,70	36,30	70,51	29,49	68,12	31,88
23	64,44	35,56	55,63	44,37	58,18	41,82
28	48,84	51,71	45,38	54,62	43,24	56,76

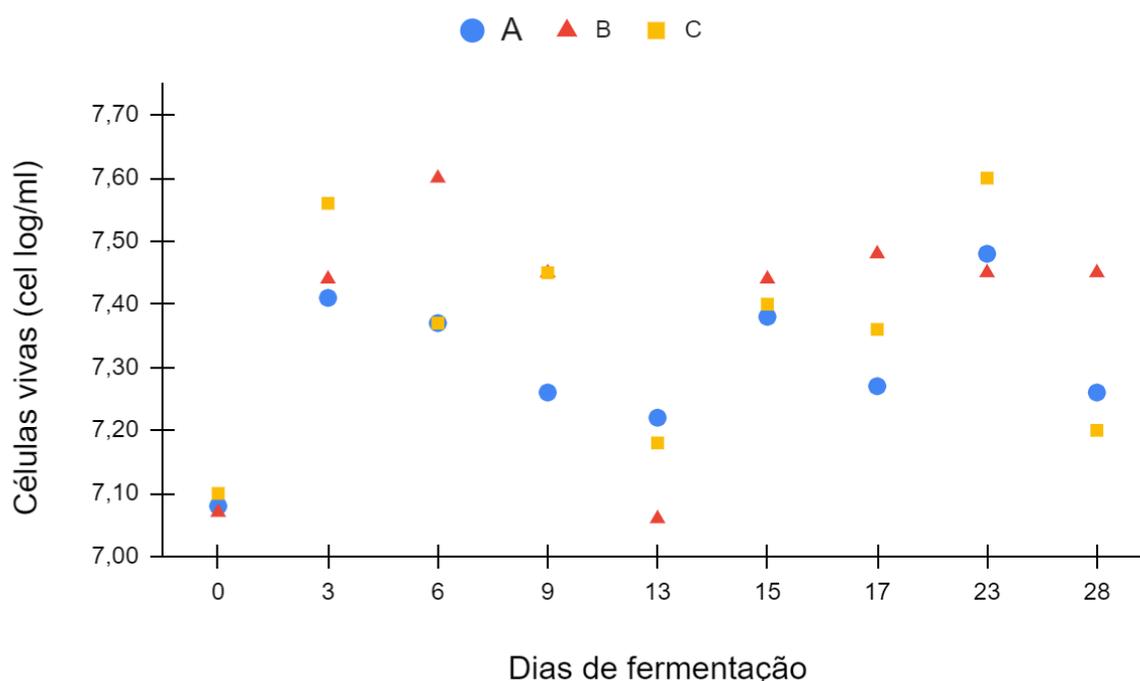
Fonte: Próprio autor (2022). Mosto A: sem aeração, Mosto B: aeração no dia 13, Mosto C: aeração no dia 0.

Para Kawa-Rygielska *et al.* (2019) a porcentagem de leveduras ativas e inativas no meio é resultante da sua condição fisiológica. Desta forma, ao analisar a tabela 1 pode-se observar que o percentual de células ativas iniciais (dia 0) variou entre 54,04% e 56,86% nos mostos de hidromel, com um aumento gradual nos três primeiros dias de fermentação, sendo mais expressivo na amostra C (75,53%), que recebeu tratamento de aeração antes da inoculação da levedura (dia 0). Nota-se que a partir do nono dia de fermentação ocorreu uma diminuição das células ativas para todas as amostras, este comportamento se manteve até o dia 13 de fermentação. Neste mesmo dia (13) foi realizado o tratamento de aeração na amostra B, sendo possível observar que para essa amostra houve uma atividade mais expressiva nos dias 15 e 17 de fermentação. Na sequência, foi verificado um declínio gradual da atividade das leveduras em todas as amostras, com consequente aumento do percentual de células inativas. Desta forma, o processo fermentativo foi finalizado no vigésimo oitavo dia,

em que o percentual de células inativas superou o percentual das ativas em todas as amostras, indicando que as leveduras possivelmente atingiram sua capacidade máxima de tolerância aos níveis de etanol presentes no meio fermentado.

A Figura 5 apresenta a contagem de células ativas (Log células/mL) das leveduras no decorrer dos 28 dias da fermentação.

Figura 5 - Contagem das leveduras ativas (Log células/mL) durante o processo fermentativo das bebidas



Fonte: Próprio autor (2022). Mosto A: sem aeração, Mosto B: aeração no dia 13, Mosto C: aeração no dia 0.

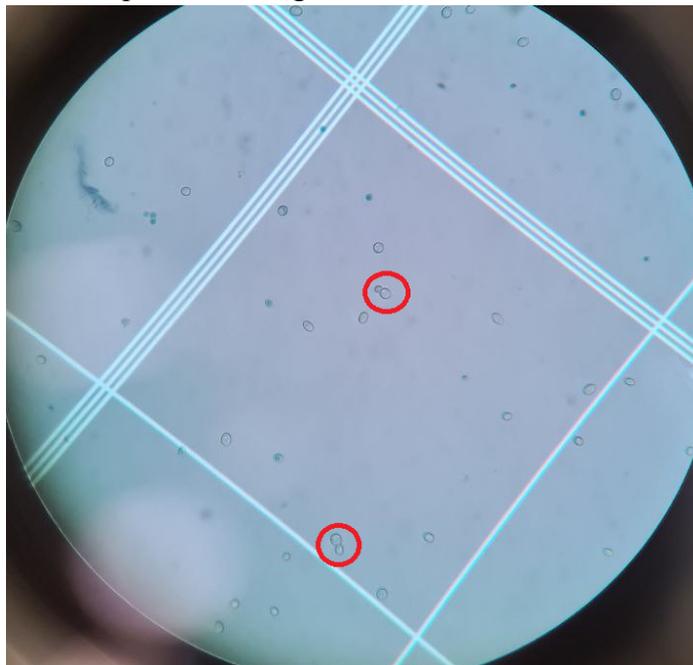
As três amostras iniciaram o processo de fermentação do hidromel com contagens de células viáveis semelhantes, sem diferenças significativas. Porém, no terceiro dia de fermentação, os valores da amostra C se tornaram superiores às demais ($p < 0,05$), indicando que a aeração do mosto antes da inoculação da levedura, teve uma influência positiva na taxa inicial de crescimento da *Saccharomyces bayanus*. Os resultados observados neste trabalho estão em concordância com os achados de Varela *et al.* (2012), que relataram que a utilização de oxigenação pré-fermentativa em mostos de uva *Chardonnay* permitiu um maior crescimento da levedura *S. cerevisiae* AWRI 796 ao longo da fermentação do vinho, em comparação às amostras que não passaram pelo tratamento de oxigenação. Comportamento semelhante também foi relatado por Reddy e Reddy (2011) ao estudarem as condições de

fermentação de fermentado de manga. Estes autores observaram que a aeração inicial no mosto de manga melhorou o crescimento celular e a taxa de fermentação inicial da levedura *Saccharomyces cerevisiae* CFTRI 101, com aumento da viabilidade das células de 6,7 log/mL (ausência de oxigênio) para 8,8 log/mL (com aeração). Além disso, Shekhawat, Bauer e Setati (2017) relatam que maiores contagens de células de levedura na presença de oxigênio é provavelmente uma consequência da maior proporção de fluxo de carbono através do metabolismo de leveduras *Crabtree*-positivas.

No nono dia de processo a contagem das leveduras das amostras B e C se igualaram, sendo superior aos valores da amostra A ($p < 0,05$). A partir do décimo terceiro dia de fermentação a amostra B apresentou um aumento significativo na viabilidade das leveduras, se diferenciando das demais ($p < 0,05$). No último dia de fermentação (28) a amostra B manteve-se com contagens superiores às demais amostras ($p < 0,05$), revelando que o tratamento de aeração no décimo terceiro dia de fermentação foi positivo para a manutenção da viabilidade celular das leveduras até o final do processo.

A Figura 6 apresenta uma imagem microscópica da contagem das leveduras em câmara de Neubauer, onde é possível observar as leveduras ativas não coradas pelo azul de metileno (células claras), já as leveduras inativas apresentam-se coradas (interior azul arroxeadado). Os círculos assinalados em vermelhos mostram a provável etapa de gemulação das leveduras.

Figura 6 - Imagem microscópica da contagem das leveduras em câmara de Neubauer.

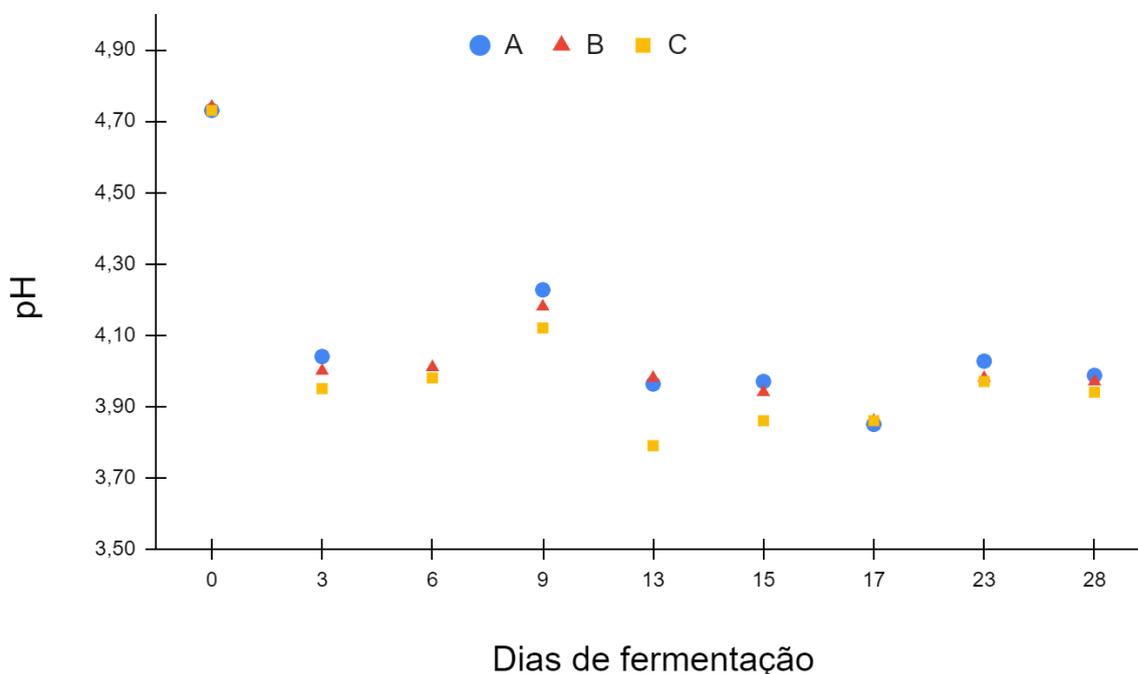


Fonte: Próprio autor (2022)

4.2 pH E SST

A figura 7 apresenta os dados de acompanhamento de pH das amostras de hidromel ao longo da fermentação.

Figura 7 - Acompanhamento do pH no decorrer dos dias da fermentação dos hidroméis.

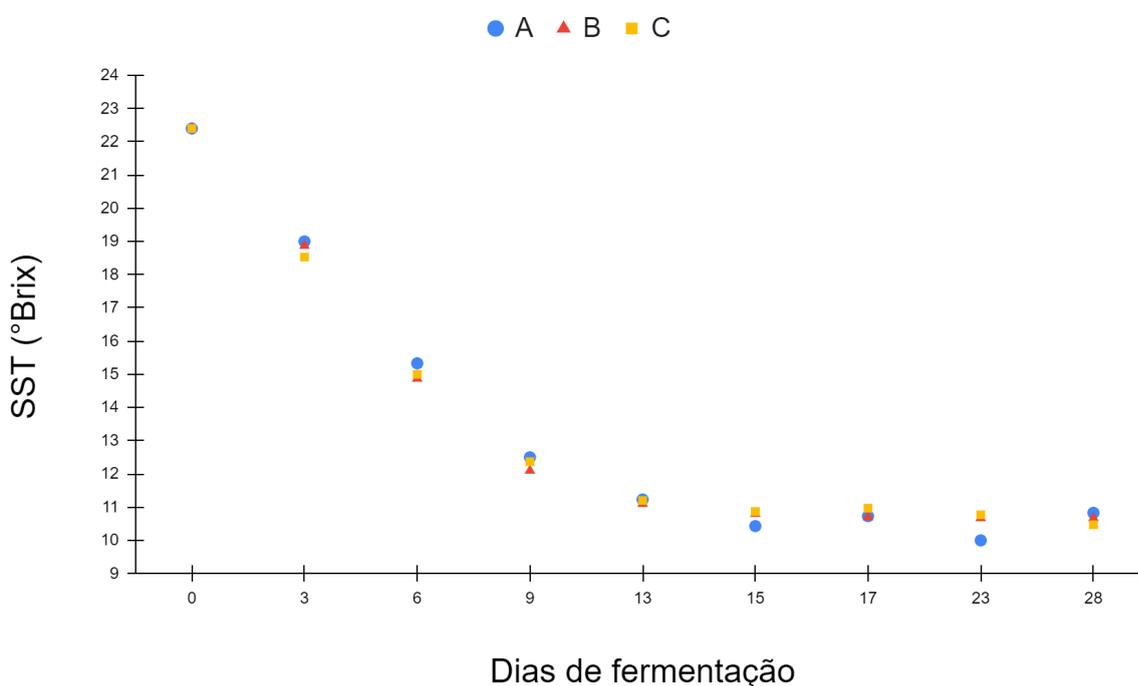


Fonte: Próprio autor (2022). Mostro A: sem aeração, Mostro B: aeração no dia 13, Mostro C: aeração no dia 0.

Assim é possível observar que no primeiro dia da fermentação todas as amostras apresentaram valores de pH similares ($p > 0,05$) e que houve uma diminuição constante nestes valores nos três primeiros dias de processo ($p < 0,05$). Comportamento semelhante foi observado por Chen *et al.* (2013), que avaliaram modificações físico-químicas durante a fermentação de hidroméis elaborados com diferentes leveduras. Segundo Sroka e Tuszynski (2007), valores de pH próximos a 4,0 são desejáveis para a fermentação, pois minimizam o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis no sistema. De acordo com estes autores a redução do pH do meio nos primeiros dias da fermentação está relacionada à produção de diferentes ácidos orgânicos, em especial o ácido succínico, considerado um metabólito secundário da fermentação alcoólica. Aceituno *et al.* (2012) relataram que a disponibilidade de oxigênio do meio pode afetar a produção de ácidos orgânicos. Estes autores observaram um aumento significativo na produção de ácido succínico pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* EC1118 em testes enológicos com mostos aerados. A partir do dia 13 o pH das amostras variou entre 3,79 e 4,03 e se manteve nesta faixa de valores até o último dia da fermentação.

Em relação ao teor de sólidos solúveis totais (SST), todas as amostras iniciaram a fermentação com o valor de 22,4 °Brix (Figura 8), sendo observado um decaimento nesse parâmetro de forma constante para as três amostras até o 17º dia de fermentação ($p < 0,05$), apresentando uma estabilidade após este dia, com valores finais (dia 28) variando entre 10,47 e 10,83 °Brix.

Figura 8 - Acompanhamento do teor de sólidos solúveis totais durante a fermentação dos hidroméis



Fonte: Próprio autor (2022). Mosto A: sem aeração, Mosto B: aeração no dia 13, Mosto C: aeração no dia 0.

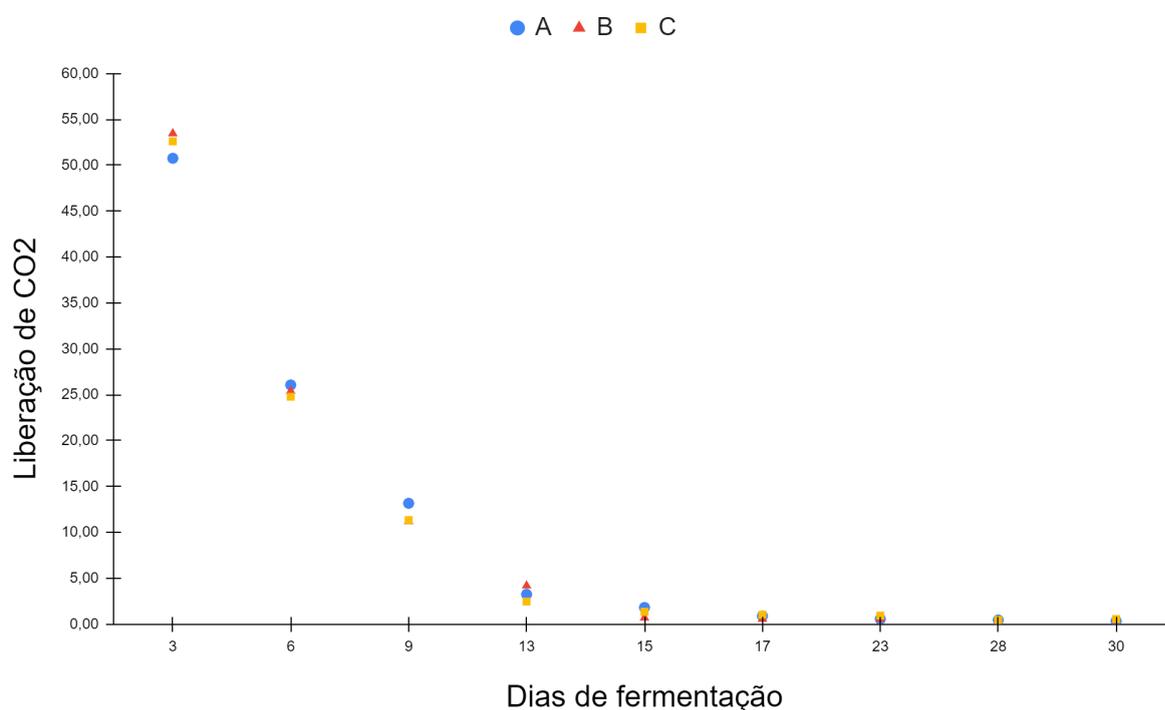
Vale ressaltar que no terceiro dia de fermentação, a amostra C alcançou um valor inferior de SST (18,53 °Brix), possivelmente devido à maior metabolização de açúcares pelas leveduras, com consequente aumento na contagem de células viáveis, conforme apresentado na seção 4.1, refletindo o efeito da aeração prévia do mosto. Além disso, a aeração realizada na amostra B, no dia 13 de fermentação, resultou em uma diminuição levemente mais acentuada ($p < 0,05$) do teor de SST desta amostra no dia 17, mantendo um perfil estável após esse período de fermentação.

Os resultados de SST ao final do processo fermentativo foram similares aos relatados por Wanderley *et al.* (2022), que avaliaram a fermentação de hidromel elaborado com diferentes frutas exóticas e nativas brasileiras.

4.3 LIBERAÇÃO DE CO₂

A Figura 9 apresenta os dados da liberação de CO₂ durante o processo de fermentação dos hidroméis.

Figura 9 - Acompanhamento da liberação de CO₂ (g) ao longo do processo fermentativo dos hidroméis.



Fonte: Próprio autor (2022). Mosto A: sem aeração, Mosto B: aeração no dia 13, Mosto C: aeração no dia 0.

Foi observada uma intensa liberação de CO₂ dos dias 3 ao 15 de fermentação para todas as amostras, com posterior estabilidade dos valores. Uma observação que pode ser feita é em relação ao perfil fermentativo entre os dias 6 e 9, onde foi notado um distanciamento dos valores das amostras B e C em comparação à amostra controle (A).

A maior produção de CO₂ com conseqüente diminuição do teor de SST é um comportamento explicado pelo mecanismo de ação da levedura, que metaboliza as fontes de carbono disponíveis no mosto (frutose, glicose, sacarose) até a transformação em duas moléculas de piruvato que posteriormente serão convertidas à duas moléculas de CO₂ e

acetaldeído, pela ação da enzima piruvato descarboxilase, para então ocorrer a redução do acetaldeído a etanol, através da enzima álcool desidrogenase (VENTURINI FILHO, 2010).

4.4 BIOMASSA CELULAR E TEOR ALCOÓLICO

A Tabela 2 apresenta os valores do peso da biomassa celular e o teor alcoólico das amostras de hidromel analisadas neste trabalho.

Tabela 2 - Peso da biomassa celular e teor alcoólico dos hidroméis.

Amostras	Peso da Biomassa (g)	Teor alcoólico (%)
A	6,65	11,00 ± 0,00 ^a
B	7,06	11,60 ± 0,00 ^b
C	7,22	11,70 ± 0,10 ^b

Fonte: Próprio autor (2022). ^{a,b} Diferentes letras minúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as amostras ($p < 0,05$). Mosto A: sem aeração, Mosto B: aeração no dia 13, Mosto C: aeração no dia 0.

Foi possível observar que as amostras submetidas aos tratamentos com aeração (B e C) apresentaram maiores valores de teor alcoólico ($p < 0,05$), além de valores superiores de peso de biomassa celular de levedura, em comparação à amostra controle (A). Estes resultados podem ter uma relação direta aos demais parâmetros fermentativos observados ao longo dos 28 dias de processo, em especial ao percentual de atividade e contagem das leveduras.

Perfil semelhante foi observado por Valero *et al.* (2002) em vinhos elaborados com a levedura *S. capensis*. Os autores observaram menores valores de etanol (10%) em vinhos elaborados com mostos não oxigenados, relacionando o resultado obtido com a baixa atividade fermentativa das leveduras nesta condição. Em mostos oxigenados foram encontrados valores médios de etanol de 13%. Segundo Aceituno *et al.* (2012), o oxigênio apresenta um grande impacto na fisiologia celular das leveduras, resultando em significativa produção de etanol, o que é compatível com a presença do efeito *Crabtree*.

Morales *et al.* (2015) relatam que valores reduzidos de etanol em bebidas fermentadas são dependentes de diferentes fatores, incluindo as condições de aeração, mas em especial a utilização de cepas de leveduras não *Saccharomyces*, puras ou em co-culturas, que tem apresentado menores valores de etanol, tanto na presença ou ausência de oxigenação do

sistema. Assim, compreender o destino do carbono nesses processos exigiria uma análise mais aprofundada e melhor conhecimento sobre o metabolismo dessas leveduras não convencionais.

5 CONCLUSÃO

Os tratamentos de aeração empregados nos mostos de hidromel antes da inoculação da levedura (dia 0 de fermentação) e ao final da sua fase estacionária (dia 13 de fermentação) promoveram o aumento do teor alcoólico das bebidas, em comparação à amostra controle, que não foi submetida à aeração. Levando em consideração os resultados da contagem de leveduras, foi possível verificar que o hidromel submetido à aeração no dia 13 apresentou ao final do tempo de fermentação uma contagem superior às demais amostras. Além disso, observou-se que todas as amostras apresentaram um decaimento gradual do pH, sólidos solúveis totais e liberação de CO₂ ao longo da fermentação, indicando uma boa condução do processo.

Este foi um estudo pioneiro empregando diferentes tratamentos de aeração em amostras de hidromel, que revelou resultados promissores, sugerindo novos estudos em busca de uma caracterização mais completa do produto. Assim, demais parâmetros e etapas de fermentação devem ser testados futuramente a fim de promover possíveis melhorias na condução do processo de aeração e as suas implicações na qualidade do hidromel.

REFERÊNCIAS

- ACEITUNO, F. F. *et al.* Oxygen Response of the Wine Yeast *Saccharomyces cerevisiae* EC1118 Grown under Carbon-Sufficient, Nitrogen-Limited Enological Conditions. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.78, p. 8340 – 8352, 2012.
- ADAMENKO, K. *et al.* Characteristics of biologically active compounds in Cornelian cherry meads. **Molecules**, v. 23, n. 8, p. 1-13, 2018.
- AKALIN, H.; BAYRAM, M.; ANLI, R. E. Determination of some individual phenolic compounds and antioxidant capacity of mead produced from different types of honey. **The Institute of Brewing**, p. 167-174, 2017.
- ALBERGARIA, H.; ARNEBORG, N. Dominance of *Saccharomyces cerevisiae* in alcoholic fermentation processes: role of physiological fitness and microbial interactions. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.100, p.2035-2046, 2016.
- ALVAREZ-SUAREZ, J. M.; GIAMPIERI, F.; BATTINI, M. Honey as a source of dietary antioxidants: Structures, bioavailability and evidence of protective effects against human chronic diseases. **Current Medicinal Chemistry**, v. 20, p. 621-638, 2013.
- AMURES. ASSOCIAÇÃO DE MUNICÍPIOS DA REGIÃO SERRANA. **Mel de melato da bracatinga do Planalto Sul Brasileiro conquista selo de indicação geográfica**. Disponível em:
<https://amures.org.br/noticias/ver/2021/07/mel-de-melato-da-bracatinga-do-planalto-sul-brasil-eiro-conquista-selo-de-indicacao-geografica-> Acesso em 18/11/2022.
- ARAÚJO, G. S. *et al.* Mead Production by *Saccharomyces cerevisiae* Safbrew T-58 and *Saccharomyces bayanus* (Premier Blanc and Premier Cuvée): Effect of Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) Extract Concentration. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.191(1), p.212–225, 2020.
- BARRY, J. P. *et al.* Two novel strains of *Torulasporea delbrueckii* isolated from the honey bee microbiome and their use in honey fermentation. **Fermentation**, v. 4, p. 1–11, 2018.
- BASTOS, R.G. **Tecnologia das fermentações: fundamentos de bioprocessos**. São Carlos: EdUFSCar, 2010. 162p.
- BERGAMO, G. *et al.* Physicochemical characteristics of bracatinga honeydew honey and blossom honey produced in the state of Santa Catarina: An approach to honey differentiation. **Food Research International**, v. 116, p. 745-754, 2019.

BERTONCELJ, J. *et al.* Characterisation of Slovenian honeys on the basis of sensory and physicochemical analysis with a chemometric approach. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p. 1661-1671, 2011.

BORGES, M. S. *et al.* Utilização do mel como terapia complementar: uma revisão sobre as propriedades biológicas associadas ao mel. **Brazilian Applied Science Review**. São Paulo, p. 1027-1045, 2021.

BRANDAM, C. *et al.* Influence of Oxygen on Alcoholic Fermentation by a Wine Strain of *Torulaspora delbrueckii*: Kinetics and Carbon Mass Balance. **Bioscience, Biotechnology & Biochemistry**, p. 1848-1853, 2013.

BRASIL. Decreto nº 6871, de 04 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 5 de jun. 2009. Seção 1, p. 20.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 34, de 29 de Novembro de 2012. Estabelece a complementação dos padrões de identidade e qualidade para as seguintes bebidas fermentadas: I - fermentado de fruta; II - fermentado de fruta licoroso; III - fermentado de fruta composto; IV - sidra; V - hidromel; VI - fermentado de cana; e VII - saquê ou sake. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 20 out. 2000, Seção I, págs. 16-17.

BRUGNEROTTO, P. *et al.* **Características físico-químicas e composição química de mel de melato de bracatinga: uma revisão**. Ponta Grossa: Atena Editora, p. 25-35, 2019. E-book.

CAMPOS, G. *et al.* Classificação do mel em floral ou mel de melato. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n.1, p. 1-5, 2003.

CARLS, S. *et al.* (org.). Aspectos relevantes das boas práticas de produção considerando a acidez livre do mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) para critérios de indicação geográfica. In: Indicações Geográficas e Produtos Tradicionais: VIII Workshop Catarinense de Indicação Geográfica, 2019, Florianópolis, SC. **Anais [...]**. Florianópolis, SC: EPAGRI, p. 134-139, 2019.

CARVALHO, G.B. M. de; BENTO, C. V.; SILVA, J. B. de A. Elementos Biotecnológicos Fundamentais no Processo Cervejeiro: 1ª Parte – As Leveduras. **Analytica**, São Paulo, out. 2006.

CECCATO-ANTONINI, S. R. **Microbiologia da fermentação alcoólica**. São Carlos: Edufscar, 2012.

CZABAJ, S. *et al.* Effects of mead wort heat treatment on the mead fermentation process and antioxidant activity. **Molecules**, v. 22, n. 5, p. 1–15, 2017.

ETERAF-OSKOU EI, T.; NAJAFI, M. Traditional and modern uses of natural honey in human diseases: A review. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 16, p. 731-742, 2013.

GALEMBECK, F.; CSORDAS, Y. Cosméticos: a química da beleza. **Coordenação central de educação a distância**, v. 1, p. 38-4, 2022.

GOIS, G. C. *et al.* Composição do mel de *Apis mellifera*: requisitos de qualidade. **Acta Veterinaria Brasileira**. Mossoró, p. 137-147, 2013.

GUPTA, J. K.; SHARMA, R. Production technology and quality characteristics of mead and fruity-honey wines: a review. **Natural Product Radiance**. v. 8, n. 4, p. 345–355, 2009.

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

INTERNATIONAL ORGANISATION OF VINE AND WINE (OIV). Compendium of international methods of wine and must analysis. Edition 2012., OIV Paris, França, 2012. 655 p.

ISLA, M. I. *et al.* Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 1922-1930, 2011.

JANUSZEK, M. *et al.* *Saccharomyces bayanus* enhances volatile profile of apple brandies. **Molecules**, v. 25, n. 14, p. 3127, 2020.

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

KORTESNIEMI, M. *et al.* Sensory and chemical profiles of finnish honeys of different botanical origins and consumer preferences. **Food Chemistry**, v. 246, p. 351-359, 2018.

LEV TECK. **Oxigenação do mosto cervejeiro: saiba mais sobre a dosagem**. Florianópolis: fev. 2022. Disponível em: <https://levteck.com.br/oxigenacao-do-mosto/>. Acesso em: 31 out. 2022.

LIMA, U. A. *et al.* **Biotechnologia Industrial - Volume 3**, Editora Blucher, 2001.

LOPES, A. C. A. *et al.* Impact of *Saccharomyces cerevisiae* single inoculum and mixed inoculum with *Meyerozyma caribbica* on the quality of mead. **European Food Research and Technology**, 2020.

MĂRGĂOAN, R. *et al.* Impact of fermentation processes on the bioactive profile and health promoting properties of bee bread, mead and honey vinegar. **Processes**, v. 8, n. 1018, p. 1-34, 2020.

MARIANO-DA-SILVA, F. M. de S.; MARIANO-DA -SILVA, S.; COSTA-NETTO, A. P. DA. Aplicação do índice de *Kirkwood* para diferenciar mel floral e de melato oriundos do município de Bom Retiro (SC). **Revista Agrarian**, v. 4, n. 13, p. 244-250, 2011.

MENDES-FERREIRA, A. *et al.* Optimization of honey-must preparation and alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* for mead production. **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, n. 1, p. 193-198, 2010.

MORAES, L. F. de. **O guia do Hidromel artesanal**. São Paulo: Lf Editorial, 2018.

MORALES, E. M.; ALCARDE, V. E.; ANGELIS, D. F. Mead features fermented by *Saccharomyces cerevisiae* (Lalvin k1-1116). **African Journal Of Biotechnology**. v. 12, n. 2, p. 199-204, 2013.

MORALES, P. *et al.* The impact of oxygen on the final alcohol content of wine fermented by a mixed starter culture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.9, n.99, p. 3993-4003, 2015.

NAYAKA, N. M. D. M. W. *et al.* Antioxidant and antibacterial activities of multiflora honey extracts from Indonesian *Apis cerana* bee. **Journal of Taibah University Medical Sciences**, v. 20, p. 1-15, 2020.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6. ed. São Paulo: Artmed, 2014.

NITZKE, J. A. **A Feira: reprodução das leveduras** – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/alimentus1/pao/fermentacao/reproducao.htm>. Acesso em: 20/10/2022.

PARAPOULI, M. *et al.* *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. **AIMS Microbiology**, v. 6, n. 1, p. 1, 2020.

PASTORE, G. M.; BICAS, J. L.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R. **Biotecnologia de Alimentos**. Vol. 2. São Paulo: Atheneu, 2013. 511p.

PEREIRA, A. P. *et al.* Mead and other fermented beverages. **Food and Beverages Industry**. p. 407-434, 2017.

- PIATZ, S. **The complete guide to making mead**. 1st ed. Minneapolis: Voyageur Press, 2014.
- PITA-CALVO, C.; VÁZQUEZ, M. Differences between honeydew and blossom honeys: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 59, p. 79-87, 2017.
- RAMALHOSA, E. *et al.* Mead production: Tradition versus modernity. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 63, p. 101-118, 2011.
- REDDY, L.V.A.; REDDY, O.V.S. Effect of fermentation conditions on yeast growth and volatile composition of wine produced from mango (*Mangifera indica* L.) fruit juice. **Food And Bioproducts Processing**, v. 89, n. 89, p. 487-491, 2011.
- RODRÍGUEZ-FLORES, M. S. *et al.* Differentiation of oak honeydew and chestnut honeys from the same geographical origin using chemometric methods. **Food Chemistry**, v. 297, p. 12497, 2019.
- ROLDÁN, A. *et al.* Influence of pollen addition on mead elaboration: physicochemical and sensory characteristics. **Food Chemistry**. v. 126, n. 2, p.574-582, 2011.
- SANTOS-BUELGA, C.; GONZÁLEZ-PARAMÁS, A. M. Chemical composition of honey. In Bee Products. **Chemical and Biological Properties**, p. 43-82, 2017.
- SCHWARZ, L. V. *et al.* Selection of low nitrogen demand yeast strains and their impact on the physicochemical and volatile composition of mead. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 8, p. 2840-2851, 2020.
- SERAGLIO, S. K. T. *et al.* An overview of physicochemical characteristics and health-promoting properties of honeydew honey. **Food Research International**, v. 119, p. 44-66, 2019.
- SERAGLIO, S. K. T. *et al.* Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the bioaccessibility of phenolic compounds, minerals, and antioxidant capacity of *Mimosa scabrella* Bentham honeydew honeys. **Food Research International**, v. 99, p. 670-678, 2017.
- SERAGLIO, S. K. T. *et al.* Development and validation of a LC-ESI-MS/MS method for the determination of phenolic compounds in honeydew honeys with the diluted-and-shoot approach. **Food Research International**, p. 60-67, 2016.
- SHEKHAWAT, K.; BAUER, F. F.; SETATI, M. E. Impact of oxygenation on the performance of three non-*Saccharomyces* yeasts in cofermentation with *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 6, n. 101, 2017.
- SILVA, I. P. *et al.* Detection of biogenic amines in mead of social bee. **LWT - Food Science and Technology**, v. 121, p. 108969, 2020.

SPITERI, M. *et al.* Combination of ¹H NMR and chemometrics to discriminate manuka honey from other floral honey types from Oceania. **Food Chemistry**, v. 217, p. 766-772, 2017.

SROKA, P.; TUSZYŃSKI, T. Changes in organic acid contents during mead wort fermentation. **Food Chemistry**, v. 104, n. 3, p. 1250-1257, 2007.

VALERO, E. *et al.* Higher alcohols and esters production by *Saccharomyces cerevisiae*: Influence of the initial oxygenation of the grape must. **Food Chemistry**, n. 78, p. 57-91, 2002.

VARELA, C. *et al.* Effect of oxygen and lipid supplementation on the volatile composition of chemically defined medium and Chardonnay wine fermented with *Saccharomyces cerevisiae*. **Food Chemistry**, p. 2863-2871, 2012.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. Vol. I. São Paulo: Blucher, 2010. 461p.

WANDERLEY, B. R. DA S. M. *et al.* How native and exotic Brazilian fruits affect the profile of organic acids and the yeast performance during the mead fermentation process? **JSFA Reports**, v. 2, p. 161-167, 2022.

YANG, W. *et al.* Chemical composition, sensory profile and antioxidant capacity of low-alcohol strawberry beverages fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspora delbrueckii*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 149, p. 111910, 2021.