

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS - UEA
ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA – EST
CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA

MARCELA ARAÚJO RUIZ

PRODUÇÃO DE HIDROMEL COM EXTRATO ALCOÓLICO DE CAPIM-SANTO
(*Cymbopogon citratus*)

MANAUS

2021

MARCELA ARAÚJO RUIZ

PRODUÇÃO DE HIDROMEL COM EXTRATO ALCOÓLICO DE CAPIM-SANTO
(Cymbopogon citratus)

**Monografia apresentada ao Curso de Graduação
em Engenharia Química da Escola Superior de
Tecnologia da Universidade do Estado do
Amazonas, para obtenção do título de Bacharel em
Engenharia Química.**

Orientador: Prof. Dr. Clairon Lima Pinheiro

Co-orientador: Prof. Dr. Rafael Lopes e Oliveira

MANAUS

2021

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Sistema Integrado de Bibliotecas da Universidade do Estado do Amazonas.

R885p Ruiz, Marcela Araújo
Produção de Hidromel com Extrato Alcoólico de Capim
Santo (*Cymbopogon citratus*) / Marcela Araújo Ruiz.
Manaus : [s.n], 2021.
58 f.: color.; 30 cm.

TCC - Graduação em Engenharia Química -
Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2021.
Inclui bibliografia
Orientador: Clairon Lima Pinheiro
Coorientador: Rafael Lopes e Oliveira

1. Mel. 2. Fermentescível. 3. Bebida Alcoólica. I.
Clairon Lima Pinheiro (Orient.). II. Rafael Lopes e
Oliveira (Coorient.). III. Universidade do Estado do
Amazonas. IV. Produção de Hidromel com Extrato
Alcoólico de Capim-Santo (*Cymbopogon citratus*)

Elaborado por Jeane Macelino Galves - CRB-11/463

MARCELA ARAÚJO RUIZ

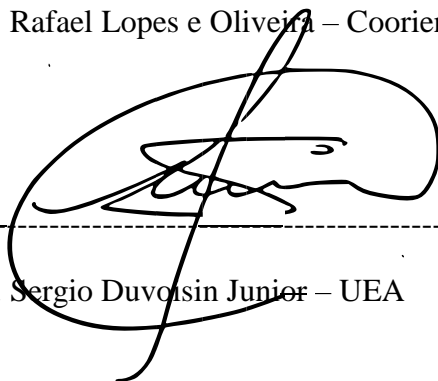
PRODUÇÃO DE HIDROMEL COM EXTRATO ALCOÓLICO DE CAPIM-SANTO
(Cymbopogon citratus)

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Engenharia Química da Escola Superior de Tecnologia da Universidade do Estado do Amazonas, para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

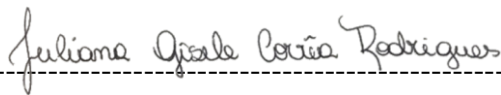
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Rafael Lopes e Oliveira – Coorientador



Prof. Dr. Sergio Duvolsin Junior – UEA



MSc. Juliana Gisele Corrêa Rodrigues - UEA

Conceito: Aprovado

Manaus, 23 de Julho de 2021

AGRADECIMENTOS

O desenvolvimento deste trabalho de conclusão de curso contou com a ajuda de diversas pessoas, dentre as quais agradeço:

À Universidade do Estado do Amazonas e todos os seus professores que me proporcionaram um ensino de alta qualidade.

A todos os mestres que contribuíram com a minha formação acadêmica e profissional ao longo da minha vida.

Ao Prof.^a Dr.^a Jorge Felipe Oliveira Franco-de-Sá pela disposição e contribuição para a realização desse trabalho.

Aos meus orientadores Prof. Dr. Rafael Lopes e Oliveira e Prof. Dr. Clairon Lima Pinheiro pela dedicação, paciência, por toparem este projeto e por sempre estarem presentes para indicar a direção correta.

A todas as pessoas do grupo de pesquisa QAT que me ajudaram em cada passo desta dissertação.

Aos meus queridos amigos, que me ajudaram ao longo da minha graduação de forma direta e indireta, que não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa, por me incentivarem a não desistir, vocês são muito importantes na realização desse sonho.

Agradeço a minha família pelo apoio, incentivo, por investirem na minha educação, me inspirarem sempre a superar todas as dificuldades.

Por fim, gostaria de agradecer a Deus por ter me dado tudo que sempre precisei para alcançar mais este objetivo.

RESUMO

O mel é sem dúvida o produto mais conhecido, proveniente das abelhas. Possui ampla aplicação nas industriais farmacêuticas, alimentícias, de cosméticos e perfumaria. Por ser um produto natural, versátil e altamente fermentescível, o mel passa a ser um ótimo ingrediente e adoçante que pode ser utilizado na produção de bebidas. Das fermentadas com mel, o hidromel é provavelmente a mais antiga bebida alcoólica conhecida pelo homem. Embora o hidromel tradicional seja feito pela simples diluição do mel, em água também são usadas especiarias na sua fabricação desde que não mascare o sabor e as características do mel. Nesse contexto, o presente estudo tem por objetivos a produção de hidromel com extrato alcoólico de capim-santo (*cymbopogon citratus*), a avaliação das características físico-químicas frente a receita com e sem a adição de adjuntos. As características analisadas foram: Densidade, pH, Microbiológica de *E.coli* e Coliformes Totais, Concentração de Metanol e Etanol, Determinação de Açúcares Totais e Determinação de Proteínas Totais. Ambas as receitas de hidromel apresentaram validações dentro do previsto pela legislação vigente. Com relação a densidade, a densidade abaixo de 1 g/L encontrada nas amostras indicam que houve diminuição na quantidade de sólidos solúveis. Já o pH encontrado nas receitas de hidroméis é um pH ácido dentro dos padrões determinados na literatura. No panorama dos testes de *E.coli* e Coliformes Totais não foram apresentadas contaminações, estando dentro das Resoluções da Diretoria Colegiada (RDC). Também não foram observados níveis de Concentração de Metanol, indicando o controle de fermentação adequada, com a Concentração Média de Etanol em 4,3% (v/v) dentro da faixa determinada pela instrução normativa de nº 34 de 2012. Segundo as quantidade de Açúcares Totais os hidroméis são classificados como produtos secos. E a Concentração de Proteínas Totais encontra-se dentro dos padrões determinados na literatura. Por fim, foi obtido um hidromel seco saborizado com capim santo de teor alcóolico médio de 4.3 conforme Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Palavras-chave: mel, fermentescível, bebida alcoólica.

ABSTRACT

Honey is undoubtedly the most known product, coming from bees. It has wide application in the pharmaceutical, food, cosmetics and scent industries. As a natural, versatile and highly fermentable product, honey became a great ingredient and sweetener that can be used in the production of beverages. Of those fermented with honey, mead is probably the oldest alcoholic drink known by man. Although traditional mead is made by simply diluting honey in water, spices are also used in its manufacture as long as it does not mask the honey's flavor and characteristics. In this context, the present study aims at the production of mead with alcoholic extract of crabgrass (*cymbopogon citratus*), the evaluation of the physicochemical characteristics against the recipe with and without the addition of adjuncts. The characteristics analyzed were: Density, pH, Microbiological of *E.coli* and Total Coliforms, Concentration of Methanol and Ethanol, Determination of Total Sugars and Determination of Total Proteins. Both mead recipes were validated in accordance with current legislation. Regarding density, the density below 1 g/L found in the samples indicates that there was a decrease in the amount of soluble solids. On the other hand, the pH found in mead recipes is an acidic pH within the standards determined in the literature. In the panorama of *E.coli* and Total Coliforms tests, no contaminations were presented, being within the Resolutions of the Collegiate Board (RDC). Also, no Methanol Concentration levels were observed, indicating adequate fermentation control, with the Average Ethanol Concentration at 4.3% (v/v) within the range determined by normative instruction n° 34 of 2012. According to the amounts of Total Sugars Meads are classified as dry products. And the Total Protein Concentration is within the standards determined in the literature. Finally, a dry mead flavored with lemongrass with an average alcohol content of 4.3 was obtained, according to the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA).

Keywords: honey, fermentable, alcoholic beverage.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fluxograma Processo de Produção do Hidromel	27
Figura 2 – Teste negativo para <i>E. coli</i>	40
Figura 3 - Teste positivo para <i>E. coli</i>	40
Figura 4 - Teste negativo na amostra de controle	40
Figura 5 - Teste negativo na amostra 3	40
Figura 6 - Área por Concentração de Metanol	42
Figura 7 – Área por Concentração de Etanol	43
Figura 8 – Intensidade por Tempo de Etanol.	44
Figura 9 – Absorbância por concentração de açúcares totais	46
Figura10- Absorbância por Concentração De Proteína Total	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Denominação dos diferentes tipos de hidroméis e suas matérias-primas.	19
Tabela 2 - Padrão de identidade e qualidade do hidromel.	20
Tabela 3 - Proporções de mel:água no preparo de mosto para produção de hidromel.	21
Tabela 4 – Formulação de suplementos do mosto de mel (massa para 3,79L de mosto - 1 galão).	23
Tabela 5 - Preparo das soluções diluídas de glicose, usadas na elaboração da curva-padrão, a partir da solução mãe de glicose 1,0 g/L.	34
Tabela 6 - Preparo das soluções diluídas de BSA, usadas na elaboração da curva-padrão, a partir da solução mãe de BSA 1,0 g/L.	36
Tabela 7 - Potencial Alcoólico referencial para hidromel.	37
Tabela 8 - Massas coletadas e densidades obtidas de Hidromel.	38
Tabela 9 - pH das amostras de Hidromel.	39
Tabela 10 - Concentração de Metanol para determinação da curva padrão	41
Tabela 11 - Concentração de Etanol.	43
Tabela 12 - Concentração de Etanol dos hidroméis.	44
Tabela 13 - Absorbâncias das Concentração de açucares totais.	45
Tabela 14 – Concentração de açucares totais.	46
Tabela 15 - Absorbâncias das Concentração de proteínas totais.	47
Tabela 16 – Concentração de proteínas totais dos hidroméis.	48

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

FAPEAM	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas
UEA	Universidade do Estado do Amazonas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 MEL.....	13
2.1.1 Definição Legal.....	13
2.1.2 Composição e Características Físico-Químicas do Mel.....	13
2.1.2.1 Hidratos de Carbono.....	14
2.1.2.2 Umidade.....	15
2.1.2.3 Minerais.....	15
2.1.2.4 Proteínas e Aminoácidos.....	16
2.1.2.5 Acidez e pH.....	16
2.1.2.6 Compostos Voláteis.....	17
2.1.2.7 Compostos Fenólicos.....	17
2.1.2.8 Outros Compostos.....	18
2.1.2.9 Cor.....	18
2.2 HIDROMEL.....	18
2.2.1 Histórico.....	18
2.2.2 Legislação Brasileira para Hidromel.....	20
2.2.3 Seleção e Preparo do Mel.....	20
2.2.4 Preparo do Mosto de Mel.....	22
2.2.5 Tratamento do Mosto de Mel.....	23
2.2.6 Seleção e Adição da Levedura.....	24
2.2.7 Fermentação.....	24
2.2.8 Trásfega	25
2.2.9 Envase	25
2.3 CAPIM-SANTO.....	25
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1 PRODUÇÃO DE HIDROMEL.....	27
3.1.1 Mel.....	28
3.1.2 Mosto de Mel.....	28

3.1.3 Fermentação	28
3.1.4 Trásfega	29
3.1.5 Extrato Alcoólico de Capim-Santo	29
3.1.6 Envase	29
3.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICA	30
3.2.1 Análise da Densidade	30
3.2.2 Análise pH	30
3.2.3 Análise Microbiológica de <i>Escherichia coli</i> e Coliformes Totais	31
3.2.4 Determinação da Concentração de Metanol	31
3.2.4.1 Condições Cromatográficas.....	31
3.2.4.2 Preparação da Curva Analítica.....	32
3.2.4.3 Preparo das Amostras.....	32
3.2.5 Determinação da Concentração de Etanol	32
3.2.5.1 Condições Cromatográficas.....	32
3.2.5.2 Preparação da Curva Analítica.....	32
3.2.5.3 Preparo das Amostras.....	33
3.2.6 Determinação de Açúcares Totais pelo Método DNS	33
3.2.6.1 Preparo do Reagente ácido 3,5 Dinitrosalicílico (DNS).....	33
3.2.6.2 Preparo da Curva-Padrão de Glicose.....	34
3.2.6.3 Preparo das Amostras.....	35
3.2.7 Determinação de Proteínas Totais pelo Método de Bradford	35
3.2.7.1 Preparo do Reagente BSA.....	35
3.2.7.2 Preparo da Curva-Padrão de BSA.....	35
3.2.7.3 Preparo das Amostras.....	36
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1 PRODUÇÃO DE HIDROMEL	37
4.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICA	38
4.2.1 Análise da Densidade	38
4.2.2 Análise pH	39
4.2.3 Análise Microbiológica de <i>E. coli</i> e Coliformes Totais	39
4.2.4 Determinação da Concentração de Metanol	41

4.2.5 Determinação da Concentração de Etanol.....	42
4.2.6 Determinação de Açúcares Totais pelo Método DNS.....	45
4.2.7 Determinação de Proteínas Totais pelo Método de Bradford.....	47
5 CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS.....	50

1 INTRODUÇÃO

Na mitologia, para os celtas, anglo-Saxões e vikings, o hidromel era uma parte importante dos rituais, por ser considerado uma bebida de nobres e dos deuses. Para esses povos, essa bebida proporcionava a imortalidade, conhecimento e dom da poesia, pois acreditava-se ter poderes mágicos de cura, capazes de aumentar a força, virilidade e fertilidade (GUPTA; SHARMA, 2009).

O hidromel tradicional é feito pela simples diluição do mel em água. Com a diluição, as leveduras já presentes no mel iniciam automaticamente o processo de fermentação, produzindo álcool. E por conta da simplicidade nesse processo de produção, acredita-se que o primeiro hidromel tenha sido feito de forma acidental pelos primeiros coletores de mel, muito antes do início da agricultura quando se teve início a produção de cerveja e, posteriormente, de vinho (IOIRICH, 1981).

O Brasil tem grande potencial para produzir grandes quantidades de produtos apícolas, devido a condições como clima, relevo, litologia – qualidade e características do sol –, composição atmosférica, umidade do ar, dentre outros. Além disso, o fato de possuir uma vasta área de cobertura vegetal natural diversificada constituída de culturas agrícolas, de pomares comerciais e de áreas de reflorestamento, também favorece a apicultura no País (MAGALHÃES, 2010).

A apicultura foi inserida no Brasil em 1839, quando algumas colônias de abelhas da espécie *Apis Mellifera* foram levadas até o Rio de Janeiro, e desde então a atividade vem crescendo no país (SEBRAE, 2015). Dentre os elaborados fornecidos pelas abelhas, o mel é sem dúvida o mais conhecido. Por ser um produto natural, versátil e altamente fermentescível, com sabor e aroma característicos, e por possuir uma grande variação de cores e sabores, o mel passa a ser um ótimo ingrediente e adoçante que pode ser utilizado na produção de bebidas, promovendo um sabor diferenciado (CRANE, 1987). O mel é responsável por fornecer notas florais de aroma à bebida, por meio dos diferentes néctares que são utilizados em sua produção, assim como a adição de outros constituintes, como o pólen (SMITH, 2009).

Em 2018, a produção de mel no país foi estimada em 42,3 mil toneladas, levando o Brasil para a décima primeira posição no rank dos maiores países produtores mundiais, sendo grande

parte desse volume destinado à exportação o que demonstra a importância da apicultura como uma atividade promissora na geração de renda (IBGE, 2018).

Apesar do hidromel, segundo a legislação brasileira, ter como ingredientes básicos para a sua produção apenas mel de abelhas, sais nutrientes e a água (BRASIL, 2012), em outros países há a adição de frutas na forma de suco ou polpa, especiarias aromáticas, tais como pimenta, canela, noz moscada, cravo da Índia, entre outros na sua formulação. Estas são adicionadas ao processamento do hidromel em forma de extrato ou diretamente em qualquer etapa no processamento da bebida (GUPTA; SHARMA, 2009).

No Brasil, existem hidroméis formulados com especiarias como baunilha e camomila. Neste segmento, o capim-santo (*Cymbopogon citratus*) também conhecido como capim-cidreira, capim-limão, cidró ou jaçapê, é muito usado como ingrediente essencial na cozinha devido a seu forte sabor de limão (BRAGA, 1960; BRIAN et AL., 2002).

Tendo em vista o grande volume de mel produzido no país, o potencial para produção de hidromel, e o promissor mercado de plantas com uso medicinal, aromático e condimentar, o presente trabalho tem como problema científico a produção de um hidromel de qualidade utilizando um mel regional com a adição de extrato alcoólico de capim-santo, que possui a finalidade de fornecer sabor e aroma característicos ao produto.

Assim, têm-se como objetivo a produção de hidromel com adição de extrato alcoólico de capim-santo.

Os objetivos específicos são:

- Desenvolver uma bebida alcoólica fermentada, utilizando extrato alcoólico de capim-santo (*Cymbopogon citratus*);
- Determinar as características físico-químicas para o hidromel;
- Comparar os hidroméis produzidos com e sem o extrato alcoólico de capim-santo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MEL

2.1.1 Definição Legal

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento conforme a Instrução Normativa de nº 11, de 20 de Outubro de 2000, o mel é o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas (*Apis mellifera*) formado a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excremento de insetos sugadores de partes vivas de plantas. As abelhas os recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, seguido do depósito, desidratação, armazenamento e maturação nos favos da colmeia (BRASIL, 2002).

O mel é uma solução concentrada de mistura complexa de açúcares, onde a frutose e a glicose são os principais contribuintes. Por conta do seu alto teor de açúcar, o mel é utilizado como conservante de alimentos, sendo também excelente opção nutricional devido aos seus benefícios demonstrados para a saúde, a nível do efeito bactericida, antisséptico, anti-reumático, diurético, digestivo, prevenção de gripes e constipações, etc. (CANADANOVIC-BRUNET et al., 2014; CHERBULIEZ AND DOMEREGO, 2003; CUERVAS-GLORY et al., 2007).

2.1.2 Composição e Características Físico-Químicas do Mel

O mel é um produto natural, versátil e altamente fermentescível que possui sabor e aroma característicos. Por conta da sua grande variação de cor e sabor é um ingrediente também pode ser utilizado na fabricação de bebidas (CRANE, 1987). A sua composição depende de fontes vegetais, de onde o produto é derivado, além de outros fatores como o solo, a espécie da abelha, o estado fisiológico da colônia, a maturação do mel, as condições meteorológicas quanto a colheita, entre outros (CAMPOS, 2000; CAMPOS et al., 2001).

O mel possui cerca de 200 substâncias, onde sua composição primária é constituída por hidratos de carbono, e as secundárias, como minerais, proteínas, vitaminas, lipídios, ácidos orgânicos, aminoácidos, compostos fenólicos (flavonóides e ácidos fenólicos), enzimas e outros

fitoquímicos (AL-MAMARY et al., 2002; ARRÁEZ-ROMÁN et al., 2006; FONSECA, 2013; BERTONCELJ et al., 2007).

2.1.2.1 Hidratos de Carbono

Os hidratos de Carbono correspondem cerca de 95 a 99% da matéria seca, dentre estes os que estão presentes em maior quantidade são a frutose (38,4%), a glicose (30,3%) e a sacarose (1,3%) (IURLINA & FRITZ, 2005) e os 12% restantes incluem dissacarídeos, como maltose e isomaltose, trissacarídeos e tetrassacarídeos (ANKLAM, 1998). A variação na concentração dos diferentes tipos de açúcares pode causar alterações no dulçor, cor, sabor, viscosidade, densidade, higroscopicidade, cristalização e tempo de conservação do mel (CAMARGO et al., 2006; MENDES et al., 2009).

Os açúcares redutores são as frações dominantes de carboidratos do mel, e possuem a capacidade de reduzir íons de cobre em solução alcalina. Dentre estes, estão a glicose que pelo fato de possuir pouca solubilidade determina a tendência da cristalização do mel, e a frutose, que por possuir alta higroscopicidade, possibilita a sua doçura (CARVALHO et al., 2005). O que torna a proporção frutose/glicose um dos principais determinantes para o “*flavour*” é a tendência da cristalização do mel. Razões elevadas de frutose/glicose juntamente com a proporção glicose/água são fatores que proporcionam um produto líquido durante períodos mais prolongados. Essa proporção de frutose em relação à glicose também depende bastante da fonte de néctar (MAGALHÃES, 2010).

A concentração de sacarose é um critério utilizado para diferenciação do mel monofloral do polifloral (CARILLO MAGANA, 1998; MENDES et al., 2009). Uma quantidade elevada deste dissacarídeo pode ser um indicativo de que houve uma colheita prematura do mel, isto é, um produto em que a sacarose não foi totalmente dissociada em glicose e frutose, pela hidrólise de ácidos diluídos ou ação da enzima invertase, secretada pela abelha (CARVALHO et al., 2005; MENDES et al., 2009).

2.1.2.2 Umidade

O segundo maior constituinte da composição do mel é água, que pode variar de 15 a 21%, dependente de vários fatores como o clima, floral originária e colheita antes da completa desidratação, podendo ainda ser alterado após a retirada da colmeia. Este parâmetro vai influenciar umas das propriedades físicas do mel, a viscosidade (OLAITAN et al., 2007). O seu conteúdo também pode ser alterado devido às condições de armazenamento e manejo, por ser um alimento muito higroscópico e absorver facilmente absorver água (CHIAPETTI e BRAGHINI, 2013).

A umidade é uma característica muito importante no mel, que influencia na a viscosidade, peso específico, maturidade, cristalização, sabor e palatibilidade (CARVALHO et al., 2005; CAMARGO et al., 2006; MENDES et al., 2009). Além de todas essas características, a umidade ainda é um dos principais responsáveis pela estabilidade do produto perante a degradação por meio da fermentação por leveduras, sendo que quanto maior a umidade do mel, maior a probabilidade de que a fermentação ocorra durante o armazenamento (CALAÇA, 2011). O teor de umidade também é um parâmetro de qualidade regulamentado pela Instituição Normativa nº11, de 20/10/2002 (BRASIL, 2002).

2.1.2.3 Minerais

As cinzas também chamadas de resíduos minerais fixos, permitem a quantificação dos minerais presentes no mel. A quantidade de minerais é pequena e de composição variável para cada tipo de mel, tendo que podem ter a sua origem nas plantas, no solo, no ar e na atmosfera (MAGALHÃES, 2010). O teor de cinzas pode variar de 0,1 a 1,0% para o mel floral e mel de melato (LASCEBE; GONETE, 1974; BOGDANOV, 1999). A concentração de minerais, juntamente com a de compostos fenólicos, exerce uma forte influência na coloração do mel, visto que quanto mais escura a sua coloração maior a presença de teor mineral (BERTONCELJ et al., 2007; ORTIZ-VALBUENA, 1998).

Dentre os principais minerais encontrados no mel, temos o potássio como principal elemento, seguido pelo cálcio, magnésio, sódio, enxofre e fósforo respectivamente. Elementos traços também incluem cobre, ferro, manganês e zinco (LACHMAN et al., 2007) As cinzas ainda podem determinar algumas irregularidades no mel, como a falta de higiene e a não decantação

e/ou filtração no final do processo de retirada do mel pelo apicultor (EVANGELISTA-RODRIGUES et al., 2005).

2.1.2.4 Proteínas e Aminoácidos

O quantidade de proteínas presentes no mel é de aproximadamente 0,2%, e provem das fontes florais e também das próprias abelhas, com a liberação de enzimas como a invertase, diástase glucose oxidase e catalase. A atividade enzimática pode indicar a exposição do mel ao calor no processo de armazenamento, podendo variar devido diferentes quantidades de saliva das abelhas adicionadas ao mel, consoante as condições climáticas (ANKLAM, 1998). Das proteínas encontradas no mel, encontram-se a α -glicosidase (invertase), β -glicosidase, amilase e glicose-oxidase (WON et al, 2008), além de diástase (α e β -amilase) e de catalase (ANKLAM, 1998). Estas enzimas determinam importantes características do mel como o seu potencial microbiano (WESTON, 2000).

Os aminoácidos livres encontrados no mel, o que se apresenta em quantidade mais expressivas é a prolina, que varia entre 50 e 85% do total de aminoácidos (WHITE,1978). Aminoácidos como arginina, triptofano e cisteína também são detectados. O perfil de aminoácidos ajuda a determinar o tipo específico de mel (PIRINI et al.,1992)

2.1.2.5 Acidez e pH

A acidez do mel é originária da variação dos ácidos orgânicos presentes, dentre estes, o ácido glicônico é o que se apresenta em maior quantidade (PEREIRA, 2008; MENDES et al., 2009; CHIAPETTI & BRAGHINI, 2013). Outros ácidos que podem estar presentes no mel são o ácido acético, butírico, cítrico, fórmico, láctico, málico, piroglutâmico e succínico (MAGALHÃES, 2010).

A acidez contribui para o sabor característico do produto, e é responsável pela excelente estabilidade do mel frente à ação de microrganismos (CAMARGO et al., 2006). A origem floral e a época de coleta são alguns fatores que interferem na acidez do mel (PEREIRA, 2008). A acidez livre é um parâmetro que possui relação inversa à quantidade de cinzas presente no mel, visto que

um teor de mineral mais elevado corresponde a uma maior fração de ácidos salinizados presentes (FINOLA et al, 2007; PEREIRA, 2008).

O pH é parâmetro que tende a ser influenciado pela acidez do néctar, do solo, a outros vegetais que compõem do mel e, ainda, por substâncias mandibulares das abelhas acrescentadas ao néctar quando do transporte até a colmeia. O pH médio do mel é de 3,9 podendo variar entre 3,4 a 6,1, e a sua cor pode variar de incolor a castanho-escuro (CODEX ALIMENTARIUS, 2011; EVANGELISTA-RODRIGUES, 2005; MENDES et al., 2009; CHIAPETTI e BRAGHINI, 2013).

Devido ao mel de abelha do grupo das melíponas possuir maior quantidade de água este possui uma atividade da enzima glicose-oxidase mais intensa, o que acarreta uma maior produção de ácido glicônico, ocasionando, ocasionando um pH relativamente baixo e acidez livre alta (NOGUEIRA NETO, 1997; MENDES et al., 2009).

2.1.2.6 Compostos Voláteis

Os compostos voláteis presentes no mel são responsáveis pelo seu aroma característico (FINIOLA et al., 2007). Muitos destes compostos provêm do néctar das flores, sendo identificados mais de 300 tipos, incluindo ácidos, alcoóis, cetonas, aldeídos, terpenos e ésteres (CASTRO-VASQUES et al., 2009). A partir desses compostos podemos obter informações acerca da origem botânica do mel, e se ele foi produzido pelas abelhas pelo néctar das flores ou de exsudados secretados pelas plantas ou insetos (ESCRICHE et al., 2009).

2.1.2.7 Compostos Fenólicos

Os principais flavonóides presentes no mel pertencem aos grupos das flavanonas e flavonas, são miricetina, tricetina, quercetina, hespertatina, leuteolina pinocebrina, caempferol, crisina, pinobanksina, genkvanina e galagina. Pelos compostos fenólicos ainda se é possível determinar sua origem geográfica (ANKLAM, 1998).

2.1.2.8 Outros Compostos

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

2.1.2.9 Cor

A cor do mel, além do “*flavour*” e aroma, é uma das características que permite identificar a sua origem floral e pode variar de amarelo pálido a âmbar, e de âmbar vermelho escuro até quase preto. Sua cor também está relacionada com o seu conteúdo de sais minerais e compostos fenólicos e é característica da sua origem botânica. Durante o armazenamento pode ocorrer escurecimento do mel devido a reações de Maillard, caramelização da frutose e reações de polienóis, sendo o grau de escurecimento dependente da temperatura e/ou tempo de armazenamento (BERTONCELJ et al., 2007).

2.2 HIDROMEL

2.2.1 Histórico

Há indícios de que as bebidas fermentadas de mel, provavelmente, são as mais antigas bebidas alcoólicas conhecidas pelo homem, sendo produzidas há milhares de anos antes do vinho e cerveja, com relatos de coletas de mel por volta de 8.000 a.C. (IGLESIAS et al., 2014).

Embora a produção de mel de abelhas africanizadas no País seja significativa, a produção de hidromel é bastante modesta, pois grande parte da produção de mel é destinada à exportação, enquanto em algumas regiões da Europa como Inglaterra, Alemanha e Polônia o hidromel seja uma bebida bastante consumida e apreciada (MATTIETTO, et al., 2006; BERRY, 2007).

De acordo com a Instituição Normativa nº64 de abril de 2008, Anexo III, que regulamenta os padrões técnicos de identidade e qualidade para o hidromel, o termo técnico hidromel é usado para designar uma bebida fermentada com graduação alcoólica de 4 a 14°GL a 20°C obtido a partir da fermentação de uma solução de mel de abelha, sais nutrientes e água potável (BRASIL, 2008).

Embora o hidromel seja o mais antigo produto fermentado utilizado pelo homem, é difícil encontrá-lo, comercialmente, na atualidade (GUPTA; SHARMA, 2009). Este problema foi originado durante os séculos XV a XVIII, quando houve um aumento do preço do mel proveniente de muitas melhorias na técnica de produção de outras bebidas, como o vinho e a cerveja, que se tornaram melhores e mais baratas. Além disso, com a chegada do açúcar das índias ocidentais criou-se uma concorrência com o hidromel. Atualmente há estudos científicos que propõem aperfeiçoamentos na produção de hidromel, incluindo o desenvolvimento de formulações com aditivos e melhorias nas condições do processamento, como o uso da ultrafiltração, pasteurização e fermentação com células imobilizadas (BERTELLO, 2001; IGLESIAS et al., 2014).

No decorrer do tempo, surgiram várias alterações no processo de elaboração do hidromel como os ditos na Tabela 1, partindo do método tradicional (mel e água) e dando origem às misturas complexas com sucos de frutas e especiarias (pimentas, cravos, baunilha, entre outras). A legislação brasileira não prevê (Anexo III da Instrução Normativa nº34 de 2012) a utilização de sucos de frutas e especiarias na fabricação do hidromel, entretanto esta prática é exercida em outros países produtores dessa bebida, contudo a incorporação desses ingredientes não deve mascarar o sabor e aroma característico de mel (MCCONNELL; SCHRAMM, 1995).

Tabela 1- Denominação dos diferentes tipos de hidroméis e suas matérias-primas.

DENOMINAÇÃO	INGREDIENTES
Mead	Bebida fermentada de água e mel
Greatmead	Hidromel envelhecido
Melomel	Hidromel com adição de frutas (exceto uvas)
Pymment	Hidromel com adição de uvas (preferencialmente uvas viníferas)
Cyser	Hidromel com adição de maçã
Metheglin	Hidromel com adição de especiarias, lúpulo e até pétalas de rosa
Braggot	Hidromel com adição de malte
Hippocras	Hidromel com adição de pimentas

Fonte: BERRY (2007)

2.2.2 Legislação Brasileira para Hidromel

Segundo o Decreto n°6871 de 4 de julho de 2009, o hidromel, “... é a bebida com graduação alcoólica de 4 a 14 % em volume, obtida a partir da fermentação alcoólica de solução contendo mel de abelha, sais nutrientes e água potável”. A Instrução Normativa n°34 de 29 novembro de 2012 é a responsável por estabelecer os parâmetros legais para o hidromel (Tabela 2), além de ressaltar que não é permitido o uso de açúcar (sacarose) para a elaboração dessa bebida. De acordo com este instrumento legal, o hidromel pode ser classificado em seco ou suave, de acordo a quantidade de açúcar na bebida (BRASIL, 2009; BRASIL, 2012).

Tabela 2 - Padrão de identidade e qualidade do hidromel

ITENS	PARÂMETROS	LIMITE MÍNIMO	LIMITE MÁXIMO	CLASSIFICAÇÃO
1	Acidez fixa, em mEq L ⁻¹	30	---	
2	Acidez total, em mEq L ⁻¹	50	130	
3	Acidez volátil, em mEq L ⁻¹	---	20	
4	Anidrido sulfuroso, em g L ⁻¹	---	0,35	
5	Cinzas, em g L ⁻¹	1,5	---	
6	Cloretos totais, em g L ⁻¹	---	0,5	
7	Extrato seco reduzido, em g L ⁻¹	7	---	
8	Graduação alcoólica, em % v/v a 20°C	4	14	
9	Teor de açúcar, em g L ⁻¹	---	≤ 3	Seco
		> 3	---	Suave

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

2.2.3 Seleção e Preparo do Mel

O mel é o único produto doce que contém proteínas, diversos tipos de sais minerais além de vitaminas. Na produção de hidromel a escolha e preparo da matéria prima, influencia,

diretamente, na qualidade da fermentação, no método de maturação, no uso de aditivos, entre outros fatores. Para a sua produção, o preparo do mosto, principalmente em relação a concentração de açúcares, bem como a determinação do final da fermentação são fatores que definem os diferentes tipos de hidromel (MORAES, 2018).

O hidromel pode ser classificado como seco e suave ao paladar, similar aos vinhos tradicionais ou classificados como doce e encorpado dependendo da sua concentração de açúcar ao final do processo de fermentação. Podemos também permitir que a fermentação continue mesmo após o engarrafamento, produzindo hidromel que se assemelha a vinhos espumantes (GUPTA; SHARMA, 2009).

O hidromel mais fino é obtido quando o mosto é preparado com proporções de 1:0,5 (mel:água), sendo que outras proporções podem ser utilizadas, conforme demonstrado na Tabela 3.

Tabela 3 - Proporções de mel:água no preparo de mosto para produção de hidromel.

REFERÊNCIAS	TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS
Gomes et al. (2015)	20-30 °Brix
Sroka; Tuszynski (2007)	Proporções de 1:2 e 1:3 (mel:água)
Wintersteen; Andrae; Engeseth (2005)	300g/L de açúcares redutores
Gomes et al. (2010)	395g/L de mel
Vidrih; Hribar (2007)	Proporção de 1:4 (mel:água) – 25% sólidos
Mendes, Ferreira et al. (2010)	22,2 °Brix
Roldan et al. (2011)	12°Be (20~22°Brix)

Além do desempenho fermentativo, a cor do mel tem correlação com outras propriedades do hidromel. Os méis mais escuros apresentam maior poder antioxidante, possuindo também sabor e aroma mais intensos em relação ao produto fabricado com méis mais claros, que é mais leve e delicado nos aromas e sabores presentes (KOGUCHI, 2009; MORAES, 2018).

2.2.4 Preparo do Mosto de Mel

O mosto de mel consiste na dissolução do mel em água, podendo acontecer a quente ou a frio. Nele também começa o planejamento do teor alcoólico do produto final (MORAES, 2018).

Pelo fato do mel ser um produto deficiente de nitrogênio, minerais e fatores de crescimento necessários para estimular o crescimento de leveduras, o mosto necessita de suplementação com nutrientes, o que durante esta etapa acelera o processo de fermentação, evitando o desenvolvimento e aumentando a vida de prateleira do produto. (GUPTA; SHARNA, 2009; MENDES, FERREIRA et al., 2010; PEREIRA et al., 2015a).

Crescimento de fungos e produção de aromas indesejados são alguns dos problemas encontrados durante o processo de fermentação, e são sempre associados à resposta da levedura como agente da fermentação, juntamente com as condições impróprias decorrentes da natureza do mosto. (PEREIRA et al., 2013).

Aumentar a disponibilidade de nitrogênio resulta em maior concentração de compostos que conferem aroma ao hidromel, principalmente ácidos graxos de cadeia média e seus respectivos ésteres (MENDES, FERREIRA et al., 2010).

A tabela 4 contém formulações para a suplementação de hidromel propostas por Morse e Steinkraus (1971).

Tabela 4 – Formulação de suplementos do mosto de mel (massa para 3,79L de mosto - 1 galão)

FORMULA 1	FORMULA 2	FORMULA 3	FORMULA 4
Ácido cítrico 18,9g	Fosfato de potássio 1,9g	Peptona 0,38g	Peptona 0,1g
Sulfato de amônio 4,65g	Cloreto de magnésio 0,7g	Tiamina 0,076g	Tiamina 20,0mg
Fosfato de potássio 1,9g	Peptona 0,38g	Pantotenato de cálcio 0,038g	Pantotenato de cálcio 10mg
Cloreto de magnésio 0,7g	Hodrogenosulfato de sódio 0,2g	Inositol 28mg	Inositol 7,5mg
Peptona 0,1g	Tiamina 76mg	Sulfato de amônio 3,2g	Sulfato de amônio 0,86mg
Hodrogenosulfato de sódio 0,2g	Inositol 28mg	Piroxidina 3,8mg	Piridoxine 1,0mg
Tiamina 20mg	Piroxidina 3,8mg	Biotina 0,19mg	Biotina 0,05mg
Pantotenato de cálcio 10mg	Biotina 0,19mg		
Inositol 7,5mg			
Piroxidina 1,0mg			
Biotina 0,05mg			

Fonte: Morse e Steinkraus (1971).

2.2.5 Tratamento do Mosto de Mel

Segundo Wintersteen, Andrae e Engeseth (2005) são realizados dois tratamentos térmicos diferentes, sendo brando e severo, no mosto de mel. O tratamento brando constitui em aquecer o mosto de mel até 60°C e, imediatamente, imergir em banho de gelo por 30 minutos, enquanto o tratamento severo constitui na fervura do mosto por 10 minutos e, posteriormente, resfriado em banho de gelo por 30 minutos.

O tratamento severo também influencia na concentração de compostos voláteis no hidromel, resultando o aumento de concentrações de compostos como acetato de isoamila, acetato de etila, decanoato de etila, dentre outros. (CAMARGO et al., 2006; PEREIRA, 2015).

2.2.6 Seleção e adição de Leveduras

Leveduras são microrganismos responsáveis pela fermentação alcoólica nas bebidas. Os gêneros *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces bayanus*, são as leveduras mais utilizadas na produção de hidromel, assim como na produção de vinho, cerveja e espumantes, e podem apresentar resistência a concentrações de álcool entre 8° a 18° GL. Leveduras liofilizadas são excelentes para a produção de hidromel. Estas devem ser armazenadas em geladeira e exigem um processo de reidratação antes da sua inoculação no mosto (FERREIRA; SOUSA; LIMA, 2010; MORAES, 2018).

No entanto, a utilização de leveduras comerciais que não se adaptam às condições do mosto de mel, resulta em problemas conhecidos também na produção de vinho, como falta de uniformidade no produto, refermentação pelas leveduras, o que leva a mudanças negativas nas características sensoriais do produto final. (O'CONNOR, COX;INGLEDEW, 1991; PEREIRA et al., 2009).

2.2.7 Fermentação

Até as primeiras 72h acontece a chamada Lag Phase onde as leveduras inoculadas estão se adaptando no novo meio. Após esse período de adaptação começa a fase respiratória. Nesta fase a levedura irá consumir todo o oxigênio presente e se replicar. Quando o oxigênio acabar a levedura dará início ao processo de fermentação, onde sem o oxigênio a levedura irá consumir o açúcar presente no mosto e gerando álcoois e CO₂, dentre outros subprodutos. Nesta fase é possível se observar a efervescência no líquido e a presença de bolhas no Airlock. Com o consumo do açúcar ou após a intoxicação da levedura com o próprio álcool acontece a decantação das mesmas para o fundo do fermentador. (CAMARGO et al., 2006; MORAES, 2018).

2.2.8 Trásfega

Na trásfega é feita a separação da borra (parte sólida) do fermentado (parte líquida). Após o fim da fermentação, quando é possível observar visualmente essa separação, é realizada a remoção da fração líquida do recipiente onde ocorreu a fermentação para outro recipiente, podendo ser realizada pela gravidade ou por meio de bombeamento (BRUNELLI, 2015). Ao final da primeira trásfega, o produto pode ainda se encontrar turvo, por isso deve-se aguardar nova sedimentação para realização de outra trásfega, ou fazer uso de agentes clarificantes como bentonita, biofine, gelatina, dentre outros, para arrastar leveduras e outras coisas presentes para o fundo do fermentador. (MORAES, 2018).

2.2.9 Envase

Após a obtenção do produto clarificado, o hidromel deve ser engarrafado em garrafas de vidro, previamente, sanitizadas. Para garantir o fim do processo fermentativo, e aumentar a vida de prateleira do hidromel, deve-se deixar sempre o menor espaço possível para o oxigênio, e assim diminuir o risco de oxidação, assim como pasteurizar as garrafas por 30 minutos a 65°C. A pasteurização também eliminará possíveis microrganismos patogênicos que possam ser encontrados no produto. É importante resfriar, imediatamente, as garrafas com água corrente após o processo de pasteurização. Após esta etapa, os hidroméis podem ser armazenados em temperatura ambiente por longos períodos. A recomendação de consumo do produto é sempre gelado (MATTIETTO et al., 2006; MORAES, 2018).

2.3 CAPIM-SANTO

O número de consumidores que buscam o prazer do paladar nas infusões de ervas e flores vem aumentando dia após dia. Estudos científicos confirmam a eficácia de certas plantas para a cura de diversos males, confirmando assim a sabedoria popular sobre o produto (CAMARGO et al., 2006).

A espécie *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf pertence à família Poaceae é originária da Índia e aclimatada no Brasil. É uma planta muito conhecida com os nomes populares de erva-cidreira,

capim-limão e capim-santo (MARTINS et al., 2004). É cultivada em todos os países na região dos trópicos, preferindo climas quentes e úmidos, e não resistindo a regiões frias e sujeitas a geadas (CORRÊA JÚNIOR et al., 1994). A espécie caracteriza-se por ser uma planta herbácea, com longas folhas aromáticas, estreitas, ágidas e ásperas, com nervuras centrais proeminentes. As flores, dificilmente vistas, se reúnem em panículas de pequenas espigas escuras (LIMA et al., 2016; SILVA et al., 2004).

Cymbopogon citratus é muito usado como ingrediente essencial na cozinha devido a seu forte sabor de limão (BRIAN et AL.,2002). Estudos comprovam sua eficiência antiespasmódica, analgésica, bactericida, inseticida, inibitória do crescimento de fungos e antimutagênica. Suas folhas são, frequentemente, usadas, sob a forma de infusão, como sedativo e calmante do sistema nervoso. (MARTINS et al., 2004).

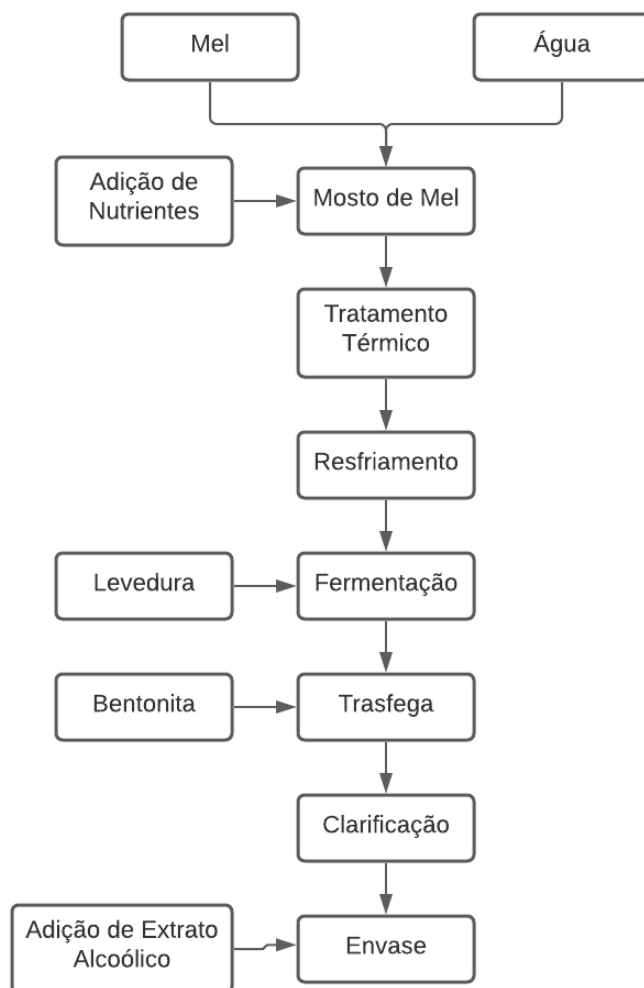
O óleo extraído do capim-santo é um dos mais importantes óleos essenciais conhecidos, internacionalmente, como essência de *lemongrass*. Grandes quantidades são usadas para obtenção de Citral, seu constituinte principal, que é utilizado como matéria-prima na obtenção de importantes compostos químicos denominados ionas, utilizados na perfumaria e ainda, na síntese da vitamina A (MARTINS et al.,2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 PRODUÇÃO DO HIDROMEL

Ao longo deste processo foram feitas duas receitas de hidromel. Uma sem adição de extrato alcoólico, receita de controle, e outra receita com a adição do extrato alcoólico de capim-santo. A receita de hidromel com adição de extrato foi feita em triplicata. Ambas receitas produzidas seguiram a metodologia proposta por Moraes (2018) utilizando algumas adaptações. Na figura 1 podemos observar fluxograma do processo de produção do hidromel.

Figura 1 – Processo de Produção do Hidromel



Fonte: Própria.

3.1.1 Mel

Para a produção do hidromel foi utilizado Mel de Abelha Africanizada, de origem Silvestre, produzido pelo do Apiária Fonseca (Registro no Ministério da Agricultura 51983-9), proveniente de Boa Vista (RR), e adquirido em supermercado local.

3.1.2 Mosto do Mel

Para a produção do mosto de mel, inicialmente, foi medido o °Brix do mel em um refratômetro. Em seguida em uma panela foi realizada a sua diluição em água estéril até que o °Brix atingisse a o valor e 15°. Para o volume de água necessária, e de mel usou-se as equações (1) e (2).

$$v * C = v1 * C1 + v2 * C2 \quad (1)$$

$$v = v1 + v2 \quad (2)$$

Onde v é o volume e C a concentração.

Foi calculado o volume de água necessário para ser adicionado ao mel, com a finalidade de obter 2L de mosto. Se adicionou também 0,3 g/L extrato de levedura por litro de mosto, como fonte de nutriente para otimizar o processo de fermentação, conforme as instruções do fabricante. O extrato foi adquirido em comércio local.

Após a adição da água e do extrato de levedura, o mosto de mel foi pasteurizado, pelo período de 30 minutos na temperatura de 65°C, para eliminação de possíveis contaminantes. Foi resfriado em banho de gelo até atingir a temperatura de 18°C, ao final do resfriamento se anotou o °Brix do mosto de mel.

3.1.3 Fermentação

No mosto de mel foi adicionada 0,75 g/L da levedura Red Star, Premier Rouge adquirida no comércio local. A levedura foi ativada de acordo com as instruções do fabricante, com a incorporação de água esterilizada e em temperatura ambiente, sendo homogeneizada até sua completa dissolução para a adição ao mosto de mel quando o mesmo atingiu 18°C.

Com a adição da levedura o mosto foi colocado em um garrafão de fermentação de 3L, previamente esterilizado com uma solução de Iodo com as concentrações conforme especificadas pelo fabricante, onde se equipou com airlock e vedou para evitar contaminações. O garrafão foi mantido em repouso na BOD (Incubadora/Estufa- termo em inglês para Demanda de Oxigênio Bioquímico) com temperatura de 18°C respeitando faixa de temperatura de trabalho da levedura.

3.1.4 Trásfega

Após o término da fermentação, que durou 6 semanas, foi observada a ausência de borbulhamento no airlock, e se efetuou a primeira trásfega onde as impurezas na forma de borra depositadas no fundo do garrafão foram retiradas. O líquido foi transferido para outro garrafão fermentador de mesmo volume, resfriado para 0°C para adição de 0,5 g/L Bentonita como clarificante, equipado com airlock e vedado para evitar contaminações. O garrafão foi mantido na BOD com temperatura de 0°C.

Após dez dias da primeira trásfega, com a clarificação do hidromel, mais impurezas na forma de borra foram retiradas.

3.1.5 Extrato Alcoólico de Capim-Santo

O Capim-Santo foi adquirido em feira local, onde se lavou e pesou 15 g em uma balança analítica suas folhas. Em seguida as folhas foram adicionadas a 200 mL de Álcool de cereal a 60 °GL e deixado por infusão por uma semana.

3.1.6 Envase

Com o hidromel já clarificado após o uso da bentonita, garrafas de 330ml e 550 mL foram sanitizadas com uma solução de Iodo com as concentrações conforme especificadas pelo fabricante. Após a secagem das garrafas já sanitizadas, o hidromel foi armazenado. Para o ajuste do dulçor, aromatização e carbonatação foi feita uma mistura de mel e extrato para ser adicionado em cada garrafa. A determinação da quantidade desta mistura adicionados ao hidromel foi

realizada após testagem em pequenas quantidades, até a escolha da melhor proporção. Foi misturado para cada litro de hidromel 74 mL de mel juntamente com 26 mL do extrato alcoólico do capim-santo. Com o auxílio de uma seringa 30 mL, foram introduzidos em cada garrafa de 330 mL, e 50 mL da mistura foram introduzidos na garrafa de 550 mL. Após a inserção da mistura, as garrafas foram arrolhadas e mantidas em refrigeração.

3.2 ANALISES FÍSICO-QUÍMICA

3.2.1 Análise da Densidade

Para a análise da densidade foi seguida a metodologia descrita por Zenebon (2008), onde um béquer foi pesado na balança analítica, que em seguida foi tarada. Com o auxílio de uma pipeta volumétrica foi coletado 1 mL de mel, do mosto de mel, da amostra de controle e das amostras com o extrato alcoólico. A medição foi realizada em triplicata, os valores de cada amostras foram anotados. A densidade de cada amostra foi obtida com a equação (3).

$$\rho = \frac{M}{V} \quad (3)$$

Onde ρ é a densidade, M a massa obtida em g e V o volume pipetado em mL.

3.2.2 Análise pH

Primeiramente, o pHmetro foi calibrado com as soluções tampão. Os eletrodos foram lavados com água destilada e, em seguida, mergulhados na solução tampão pH 7,00. Repetiu-se o procedimento de lavagem dos eletrodos com água destilada e, desta vez, o eletrodo foi mergulhado na solução tampão pH 4,00.

Para determinar o pH das amostras foi utilizada conforme a metodologia proposta por Zenebon (2008), os eletrodos foram inseridos na amostra de controle e nas amostras como extrato de capim-santo para leitura do pH. Os dados foram registrados juntamente com suas respectivas temperaturas de coleta.

3.2.3 Análise Microbiológica de *Escherichia coli* e Coliformes Totais

Utilizando luvas, foi retirada a cartela microbiana do envelope tocando apenas a acima do picote. Em seguida a cartela foi emergida nas amostras de hidromel a serem analisadas até a área do picote e foi aguardada até que a mesmas se umedecessem. As cartelas foram retiradas das amostras e o excesso de líquido foi removido com movimentos bruscos.

As cartelas foram colocadas novamente em sua embalagem plástica e o picote foi removido sem tocar no restante. As amostras foram inseridas na estufa por 15 horas a temperatura de 36-37°C.

Após 15 horas de incubação as cartelas foram removidas da estufa tocando apenas na parte acima do picote para observar se houve contaminação.

Os indicadores podem ser visualizados em ambos os lados da cartela na faixa de análise de 80 à 25000 UFC/100 mL descrita pelo fabricante. Sendo o indicativo para *E. coli* pontos violeta a azuis e para Coliformes Totais pontos violetas a azuis e róseo a vermelhos.

3.2.4 Determinação da Concentração de Metanol

As determinações do teor de Metanol foram realizadas utilizando equipamento o Cromatógrafo Gasoso (CG) com detector de ionização de chama (*flame ionization detector* - FID) GC-2010 da marca Shimadzu conforme metodologia proposta por Zenebon (2008).

3.2.4.1 Condições Cromatográficas

A temperatura inicial da coluna foi programada para 250 °C com tempo de amostragem de 1 min. O gás de arraste foi o nitrogênio, com vazão de 40 mL/min, pressão de 50 KPa e fluxo total de 22,7 mL/min. O volume da injeção foi de 0,5 µL.

3.2.4.2 Preparação da Curva Analítica

Foi preparada uma solução mãe em um balão de 50 mL com 600 ppm de metanol utilizando 30 μ L em água ultrapura. Em seguida a solução foi diluída, em concentrações menores, em balões de 10 mL utilizando a equação (3).

As soluções foram agitadas, vigorosamente, e injetadas no Cromatógrafo em fase gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID). Os picos foram identificados juntamente com seus respectivos tempos de retenção, para traçar a curva analítica.

3.2.4.3 Amostras

As amostras foram identificadas, separadas e injetadas no GC-FID “in natura”, os picos foram identificados juntamente com seus respectivos tempos de retenção.

2.3.5 Determinação da Concentração de Etanol

As determinações do teor de Etanol foram realizadas utilizando equipamento o Cromatógrafo Gasoso (CG) com detector de ionização de chama (*flame ionization detector* - FID) GC-2010 da marca Shimadzu conforme metodologia proposta por Zenebon (2008).

3.2.5.1 Condições Cromatográficas

A temperatura inicial da coluna foi programada para 250 °C com tempo de amostragem de 1 min. O gás de arraste foi o nitrogênio, com vazão de 40 mL/min, pressão de 50 KPa e fluxo total de 22,7 mL/min. O volume da injeção foi de 0,5 μ L.

3.2.5.2 Preparação da Curva Analítica

Foi preparada uma solução mãe em um balão de 50 mL, utilizando 6 mL de etanol e completando o restante com água ultrapura para obter uma concentração de 12% (v/v) de etanol.

Em seguida a solução foi diluída, em concentrações menores, para balões de 10 mL utilizando a equação (3).

As soluções foram agitas, vigorosamente, e injetadas no Cromatógrafo em fase gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID). Os picos foram identificados juntamente com seus respectivos tempos de retenção, para traçar a curva analítica.

3.2.5.3 Amostras

As amostras foram separadas e injetadas no GC-FID, os picos foram identificados juntamente com seus respectivos tempos de retenção.

2.3.6 Determinação de Açúcares Totais pelo Método de DNS

A análise de Açúcares Totais foi realizada utilizando o Espectrofotômetro UV-1800 da marca Shimadzu conforme metodologia proposta por Maldonado (2013).

2.3.6.1 Preparo do Reagente Ácido 3,5-Dinitrosalicílico (DNS)

Para um volume final de 1.000 mL, 10 g de ácido 3,5-dinitrosalicílico foram adicionados a 200 mL de uma solução 2 M de hidróxido de sódio recém-preparada. (Solução A) Em paralelo, 300 g de tartarato duplo de sódio e potássio foram dissolvidos em 500 mL de água destilada, sob aquecimento e agitação constantes (Solução B). Foi adicionada a solução A em B sendo misturadas completa dissolução do DNS. Após resfriamento, transferir a mistura para balão volumétrico de 1.000 mL e aferiu-se o volume com água destilada. O reagente foi armazenado em frasco de polipropileno etiquetado, datado, ao abrigo da luz.

2.3.6.2 Preparo da Curva-Padrão de Glicose

Para o preparo da solução mãe de glicose, foi pesado 1,0 g de glicose anidra e transferida para balão volumétrico de 1,0 L. A partir da solução mãe de glicose 1,0 g/L, foram preparadas soluções com concentrações variando de 0,1 g/L a 0,8 g/L de glicose, conforme Tabela 5.

Foram transferidas alíquotas de volume conveniente de cada solução preparada, incluindo a solução mãe, para tubos de ensaio. A leitura da intensidade da cor foi feita em um espectrofotômetro a 540 nm. A calibração (branco) foi feita utilizando água destilada.

Tabela 5 - Preparo das soluções diluídas de glicose, usadas na elaboração da curva-padrão, a partir da solução mãe de glicose 1,0 g/L.

Concentração de glicose (g/L)	Volume de solução padrão de glicose (mL)	Volume de água destilada (mL)
0,10	1,0	9,0
0,20	2,0	8,0
0,30	3,0	7,0
0,40	4,0	6,0
0,50	5,0	5,0
0,60	6,0	4,0
0,70	7,0	3,0
0,80	8,0	2,0

Fonte: Própria.

A absorvância foi inserida no eixo Y contra a concentração de glicose (g/L) no eixo X. A partir da equação da reta, foi calculado o fator de concentração. Os valores da equação somente se aplicam ao intervalo testado.

3.2.6.3 Preparo das Amostras

Após a determinação da equação da reta a partir da curva padrão, 50 μL das amostras de hidromel foram adicionados a 100 μL da solução de DNS e 850 μL de água destilada. As soluções então foram analisadas quanto aos açúcares redutores.

2.3.7 Determinação de Proteínas Totais pelo Método de Bradford

A análise de Proteínas Totais foi realizada utilizando o Espectrofotômetro UV-1800 da marca Shimadzu conforme metodologia proposta Vasconcelos (2013).

2.3.7.1 Preparo do Reagente BSA

Foi adicionada 0,0053 g de Albumina Bovina Sérica (BSA) em 5 mL de água destilada. O reagente foi agitado no vortéx e ficou em repouso por 5 minutos.

3.2.7.2 Preparação da Curva Padrão

Foram preparadas soluções com concentrações variando de 0,1 g/L a 0,9 g/L de BSA, conforme Tabela 6.

Foram transferidas alíquotas de volume conveniente de cada solução preparada, incluindo a solução mãe, para tubos de ensaio. A leitura da intensidade da cor foi feita em um espectrofotômetro a 595 nm. A calibração (branco) foi feita utilizando água destilada.

Tabela 6 - Preparo das soluções diluídas de BSA, usadas na elaboração da curva-padrão, a partir da solução mãe de BSA 1,0 g /L.

Concentração de BSA (μL)	Volume de solução padrão de BSA (μL)	Volume de água destilada (μL)
0,10	1,0	9,0
0,20	2,0	8,0
0,30	3,0	7,0
0,40	4,0	6,0
0,50	5,0	5,0
0,60	6,0	4,0

Fonte: Própria.

A absorvância foi inserida no eixo Y contra a concentração de BSA (μL) no eixo X. A partir da equação da reta, foi calculado o fator de concentração. Os valores da equação somente se aplicam ao intervalo testado.

3.2.7.3 Preparo das Amostras

Após a determinação da equação da reta a partir da curva padrão, 100 μL das amostras de hidromel foram adicionados a 1000 μL do reagente de Bradford. As soluções foram analisadas quanto a quantidade de proteínas totais.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PRODUÇÃO DO HIDROMEL

O mosto foi preparado através da diluição do mel que possuía, inicialmente, 78 °Brix, 3,47 de pH e OG de 1.312, em água até se obter 15°Brix e OG de 1.060 , em temperatura ambiente. Considerando-se que o volume final de hidromel desejado era de 2L os cálculos dos volumes de mel e de água necessários foram realizados utilizando as equações (1) e (2). Para cada litro de água foi utilizado 189 mL, aproximadamente (284g) do Mel. Com o auxílio de um densímetro foi observada também a Gravidade Inicial (OG – *original gravity*) de 1.060, para servir de base na escolha da levedura. Para estimular a fermentação, foram adicionados também ao mosto 0,3 g/L de extrato de cerveja conforme instruções do fabricante.

Densidades acima de 1.100 dificultam o processo de fermentação pelas leveduras, mesmo que com uma população adequada inicialmente. Caso se deseje produzir um hidromel de alto teor alcoólico e de alta densidade deve-se iniciar o processo com uma densidade adequada para a levedura e depois fazer adição de mais mel durante o processo. (MORAES, 2018)

A tabela 7 apresenta uma referência para o potencial Alcoólico segundo Moraes (2018).

Tabela 7 - Potencial Alcoólico referencial para hidromel.

Densidade Original (OG)	Potencial Alcoólico
1045	5,91
1050	6,61
1055	7,32
1060	8,04
1065	8,77
1070	9,51
1075	10,27

Fonte: Moraes, 2018.

Foi adicionada 0,75 g/L da levedura Red Star, Premier Rouge que aceita 16% de teor alcoólico de acordo com as instruções do fabricante a temperatura de 18°C. Após o processo de fermentação que teve duração de 6 semanas foi realizado as trasfegas para a adição do extrato alcoólico de capim-santo, do mel e o envase.

4.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICA

4.2.1 Análise da Densidade

Para a análise da densidade do hidromel, 1 mL de cada amostra foi coletado na pipeta volumétrica e pesado em triplicata. O Hidromel, sem a adição do extrato alcoólico, foi considerado como controle e a triplicata da receita como amostras 1, 2 e 3. Água Destilada, também foi pesada para o cálculo de erro da pipeta. Utilizando a equação (3) do item 3.2.1 foi possível calcular a densidade de cada amostra ao final do processo de fermentação. As massas e as densidades obtidas estão disposta na tabela 8.

Tabela 8 - Massas coletadas e densidades obtidas de Hidromel.

Hidromel	Massa 1 (g)	Massa 2 (g)	Mass 3 (g)	Densidade (g/mL)	Desvio Padrão
Mel	1,420	1,786	1,927	1,710	±0,263
Mosto de Mel	1,0425	1,0437	1,044	1,043	±0,001
Controle	0,935	0,902	0,928	0,922	±0,017
Amostra 1	0,930	0,907	0,941	0,926	±0,017
Amostra 2	0,963	0,937	0,932	0,944	±0,016
Amostra 3	0,936	0,949	0,939	0,941	±0,006
Água destilada	0,940	0,969	0,958	0,956	±0,044

Fonte: Própria.

A densidade das bebidas está diretamente relacionada com o consumo de substrato e produção de álcool, com o consumo de glicídios durante o processo de fermentação diminui o teor

de sólidos dissolvidos e conseqüentemente a densidade diminui. Ao mesmo tempo, a produção de etanol também contribui para diminuição da densidade da bebida (GOMES, 2010).

Em todas as amostras do hidromel, foi observada a diminuição da densidade das bebidas o que indica que o houve produção de álcool, independentemente, do uso do extrato alcoólico na receita. Vale ressaltar que a densidade da água em temperatura ambiente encontrou-se menor do que a esperada segundo a literatura em temperatura ambiente é de 0,997g/mL segundo César (2004) indicando erro no equipamento.

4.2.2 Análise da pH

A análise de pH foi executada conforme o item 3.2.2, e os valores de pH das amostras com suas respectivas temperaturas de leitura encontram-se na tabela 9.

Tabela 9 - pH das amostras de Hidromel.

Hidromel	pH	Temperatura (°C)
Controle	3,29	17,6
Amostra 1	3,33	18,1
Amostra 2	3,38	18,3
Amostra 3	3,35	18,3

Fonte: Própria.

Nas amostras do hidromel, foi não foi observado um aumento de acidez significativo ao comparar a receita que possui extrato alcoólico com a receita de controle após o término da fermentação. Contudo, a Instrução Normativa N° 34, de 29 de novembro de 2012 não estabelece valores de pH para o hidromel, contudo o pH de um hidromel é sempre ácido. Isso acontece porque a levedura se multiplica melhor em meio ácido (MORAES, 2018).

4.2.3 Análise Microbiológica de *E. coli* e Coliformes Totais

A análise microbiológica foi executada conforme o item 3.2.3, e os resultados podemos observar nas imagens.

Figura 2- Teste negativo para *E. coli*



Figura 3 - Teste positivo para *E. coli*



A figura 1 apresenta o teste negativo e a figura 2 o teste positivo. Os Pontos azuis no teste positivo são marcadores de *E. coli* e os pontos em vermelho são indicadores de Coliformes Totais.

As amostras analisadas no teste foram a amostra de controle e a amostra 3. A figura 3 apresenta a testagem do hidromel de controle e a figura 4 o testagem da amostra 3 de hidromel.

Figura 4 - Teste negativo na amostra de controle



Figura 5 - Teste negativo na amostra 3



As duas amostras não apresentaram contaminação, indicando que os produtos foram elaborados sob condições sanitárias adequadas, o uso ou não do extrato alcoólico na receita atende a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) - RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, que estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos e os critérios para a conclusão e interpretação de análises microbiológicas de alimentos destinados ao consumo humano (BRASIL, 2001).

4.2.4 Análise de Determinação de Metanol.

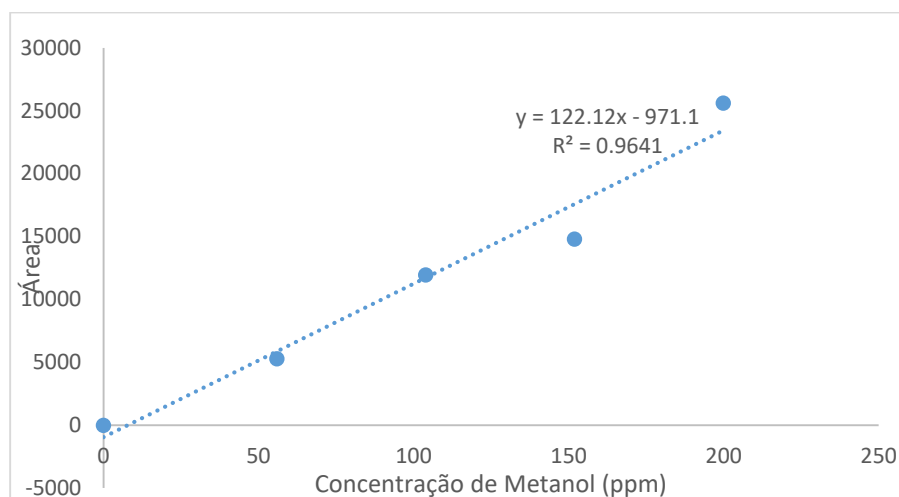
Os valores coletados no cromatógrafo para a curva-padrão estão disponíveis na tabela 10. Após a aferição dos dados obtidos foi possível traçar a equação da reta e o nível de confiança da curva para o cálculo da concentração de metanol das amostras. Na figura 6 podemos observar a curva de calibração.

Tabela 10 - Concentração de Metanol para determinação da curva padrão.

Concentração (ppm)	Área	Tempo de Retenção	Desvio padrão
12	0	-	0
56	7035,800	1,809	1885,093
104	15911,666	1,805	3605,504
152	19700,933	1,805	664,864
200	34073,200	1,802	8104,168

Fonte: Própria.

Figura 6 - Área por Concentração de Metanol.



Fonte: Própria.

As amostras de hidromel foram analisada para verificação de presença de metanol conforme o item 3.2.5. Não foi possível observar picos de metanol, indicando que os produtos foram elaborados sob condições adequadas de fermentação, que o uso do extrato alcoólico na receita mantém as conformidades da Instrução Normativa de nº 14, de 8 de fevereiro de 2018, que estabelece os padrões de identidade e qualidade de fermentados acéticos (BRASIL, 2018).

4.2.5 Análise de Determinação de Etanol.

As amostras de hidromel foram analisada para verificação de presença de etanol conforme o item 3.2.5 os valores lidos no cromatografia estão disponíveis na tabela 11.

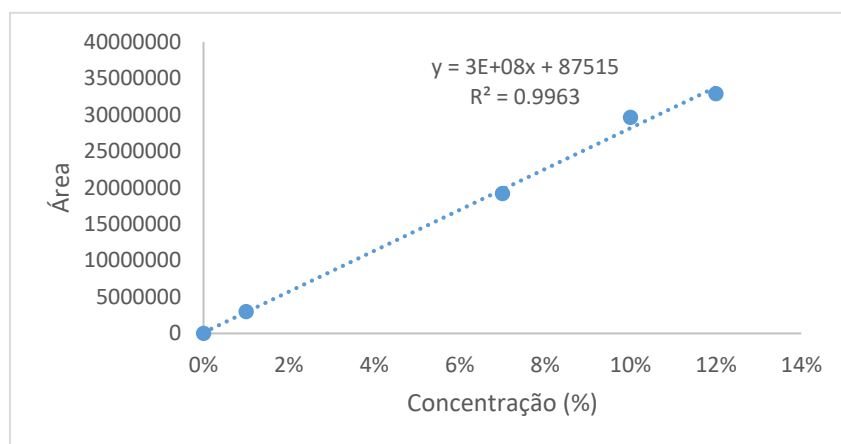
Tabela 11 - Concentração de Etanol.

Concentração (%)	Área	Tempo de Retenção	Desvio padrão
0	0	-	0
1	2978292,80	1,895	202852,161
7	19203825,63	1,898	1341692,987
10	29668264,27	1,902	1046597,109
12	32901476,4	1,896	2353981,105

Fonte: Própria.

A partir dos valores coletos foi possível traçar a equação da reta e o nível de confiança da curva para o cálculo da concentração de etanol das amostras. Na figura 7 podemos observar a curva-padrão.

Figura 7 – Área por Concentração de Etanol.



Fonte: Própria.

Com a equação da reta e o nível de confiança da curva para o cálculo da concentração de etanol das amostras obtivemos o nível de concentração descrito na tabela 12.

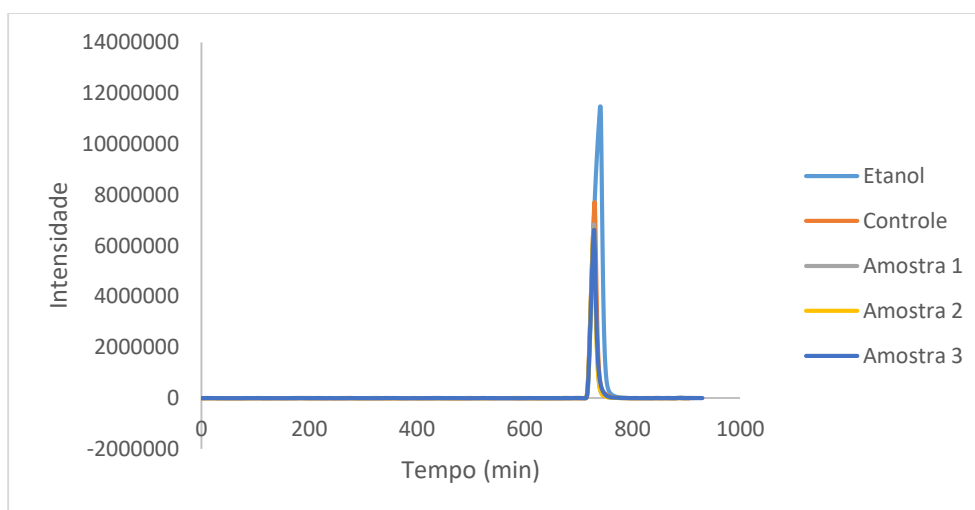
Tabela 12 - Concentração de Etanol dos hidroméis.

Hidromel	Média	Concentração (%)
Controle	14063792,8	4,698
Amostra 1	13281561,95	4,435
Amostra 2	11907021,05	3,971
Amostra 3	12962008,2	4,327

Fonte: Própria.

Na figura 8 podemos observar os teores alcoólicos em relação a curva padrão obtida de etanol.

Figura 8 – Intensidade por Tempo de etanol.



Fonte: Própria.

As amostras de hidromel foram analisadas e os hidroméis obedeceram ao limite de etanol pré-determinado na legislação brasileira que varia de 4-14 % (v/v) (BRASIL, 2012), entretanto no que se refere a legislação internacional que preconiza valores de 8-18 % (v/v) (PEREIRA et al., 2009) nenhum dos produtos alcançou o valor mínimo necessário. Contudo a adição de extrato pode ter resultado na criação de compostos fenólicos ocasionando perda de teor alcoólico.

4.2.6 Determinação de Açúcares Totais pelo Método do DNS

As soluções de glicose foram preparadas conforme a tabela 6 do item 3.2.6 os valores de absorvância foram lidos e estão disponíveis na tabela 13.

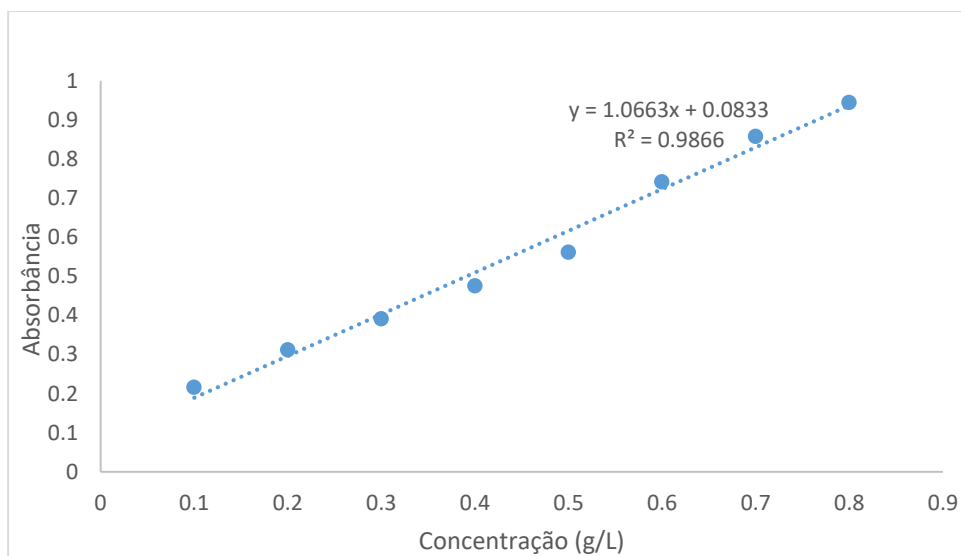
Tabela 13 - Absorbâncias das Concentração de açúcares totais.

Concentração de glicose (g/L)	Absorbância
0,10	0,217
0,20	0,313
0,30	0,392
0,40	0,476
0,50	0,562
0,60	0,742
0,70	0,858
0,80	0,945

Fonte: Própria.

A partir dos valores lidos foi possível traçar a equação da reta e o nível de confiança da curva para o cálculo de Açúcares Totais das amostras. Na figura 9 podemos observar a curva de calibração.

Figura 9 – Absorbância por concentração de açúcares totais



Fonte: Própria.

Com a equação da reta obtivemos o nível de concentração das amostras descrito na tabela 14.

Tabela 14 – Concentração de açúcares totais.

Hidromel	Média (nm)	Concentração g/L
Controle	0,8326	0,699466
Amostra 1	0,9206	0,780893
Amostra 2	0,8880	0,750666
Amostra 3	0,9460	0,804334

Fonte: Própria.

Para as amostras de hidromel foram analisadas, segundo Brasil (2012) os hidroméis com porcentagem de teor de açúcares menor que 3 g/L são considerados produtos secos segundo a legislação na normativa nº34. Conforme a tabela 14 ao comparar a amostra de controle com as amostras que possuem extrato foi possível observar que a concentração de açúcar das amostras foi maior dado que o teor alcoólico das mesmas foi menor.

4.2.7 Determinação de Proteínas Totais pelo Método de Bradford

As soluções de BSA foram preparadas conforme a tabela 7 do item 3.2.7 os valores de absorvância foram lidos e estão disponíveis na tabela 15.

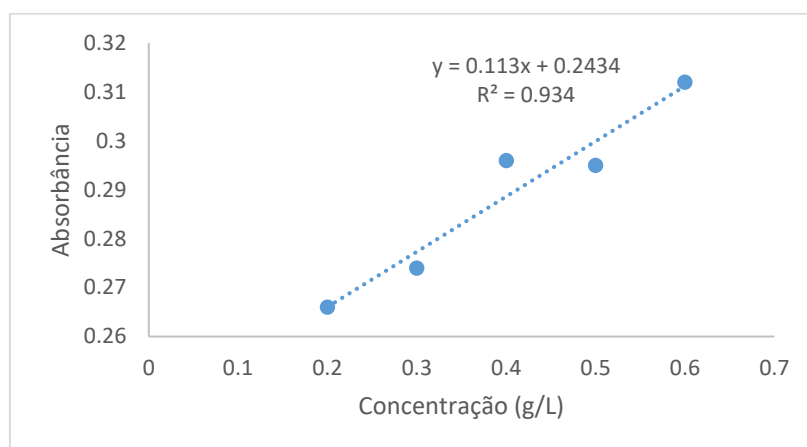
Tabela 15 - Absorbâncias das Concentração de proteínas totais

Concentração de BSA (μL)	Absorbância
0,10	0,167
0,20	0,266
0,30	0,274
0,40	0,296
0,50	0,295
0,60	0,312

Fonte: Própria.

A partir dos valores lidos foi possível traçar a equação da reta e o nível de confiança da curva para o cálculo de Proteínas Totais das amostras. Na figura 10 podemos observar a curva de calibração.

Figura10- Absorbância por Concentração De Proteína Total



Fonte: Própria.

A partir equação da reta obtivemos o nível de concentração das amostras descrito na tabela 16.

Tabela 16 - Concentração de proteínas totais dos hidroméis

Hidromel	Média	Concentração (g/mL)
Controle	0,2796	0,275
Amostra 1	0,3063	0,278
Amostra 2	0,2980	0,277
Amostra 3	0,3593	0,284

Fonte: Própria.

Segundo Solayman (2016) a quantidade de proteínas no mel pode variar, aproximadamente, entre 0,2 a 2,93% (m/m) (Solayman et al., 2016).

5 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, e visando atender aos objetivos específicos, podem-se formular as conclusões apresentadas a seguir:

A produção das receitas de hidromel ocorreram conforme o previsto na legislação pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) obedecendo a faixa de teor alcoólico de graduação de 4-14 °GL a 20°C.

Das análises físico-químicas realizadas, a partir medição de densidade foi observar a diminuição de sólidos dissolvidos no mosto, comprovando assim a transformação de açúcar em álcool ao analisar a amostra de controle e das amostras com o extrato de capim-santo ao comparar com a densidade do mel e do mosto.

Da análise de pH os resultados esperados e obtidos se assemelham, uma vez que é característica do hidromel acidez conforme apresentado na literatura.

Quanto a análise microbiana de *E.coli* e coliformes totais os dados obtidos ocorreram conforme o desejado já que tanto o grupo controle quanto as amostras com o extrato se encontraram sem contaminações.

Não foram encontradas concentrações de metanol em nenhuma das receitas estando de acordo com a normativa nº14 de fevereiro de 2018 que determina os padrões de identidade e qualidade de fermentados.

A concentração de etanol encontrada foi abaixo do esperado contudo dentro dos valores determinados nas normativas para hidromel e fermentados acéticos.

Nos testes de determinação de açúcar as quantidades encontradas foram abaixo de 3g/L indicando um produto dentro da classificação de seco segundo literatura

Na análise de proteínas totais os valores encontrados estão dentro do padra de proteínas presentes em hidroméis conforme afirmado por Solayman (2016).

Portanto são necessárias mais análises voltadas para a obtenção de dados mais concretos sobre a formação de metabólitos contaminantes secundários, para compreensão na influência do teor alcoólico final.

REFERÊNCIAS

- AL-MAMARY, M., AL-MEERI, AL-HABORI, M. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. **Nutrition Research**, 22, 1041-1047, 2002.
- ANKLAN, E. A review of the analytical methods to determinate the geographical and botanical origin of honey. **Food Chemistry**, v. 63, n. 4, p. 549-562, 1998.
- ARRÁEZ-ROMÁN, D.; GÓMESCARAVACA; A. M. GOMÉZ-ROMERO, M., SEGURA-CARRATERO; A., FERNÁNDEZ-FUTIÉRREZ, A. Identification of phenolic compounds in Rosemary honey using solid-phase extraction by capillary electrophoresis-electrospray ionization-mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.41, p. 1648, 2006.
- BERRY, B. The global mead market: opportunities for canadian mead exporters. Ottawa, Ontário. **Agriculture and Agri-Food Canada**, 2007.
- BERTELLO, J. P. Hidromiel: De la miel, el vino. **Revista Inter-Forum**. Edição electronica, 2001.
- BERTONCELJ, J., DOBERSEK, U., JAMNIK, M., GOLOB, T. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. **Food Chemistry**, 105, 822-828, 2007.
- BOGDANOV, S. Honey quality and international regulatory standards: reiew by the international honey commission. Bee World, **Treforest**, v. 80, n. 2, p. 61-69, 1999.
- BRASIL. Decreto nº6871, de 04 de junho de 2009. Regulamenta a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas pela Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF: Secretaria de Vigilância Sanitária, 2009;
- BRASIL. Instrução Normativa n. 64, de 23 de abril de 2008. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Anexo III, Regulamento Técnico para a Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Hidromel. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 abr. 2008;
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 23 out. 2000.

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

BRASIL. RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária 2001.

BRASIL. RDC nº 14, de 08 de fevereiro de 2018. Regras gerais sobre o padrão de identidade e qualidade de bebidas, fermentados acéticos, vinho e derivados de uva e do vinho importados. **Diário Oficial da União**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA - 2018. CAC. Codex Stan 12-1981. Codex Alimentarius Commission. **Codex standard for honey**. 2011.

CALAÇA, P. S. S. T. **Aspectos da biologia de *Melipona Quinquefasciata* Lepelletier (Mandaçaia do chão), características físico-químicas do mel, recursos alimentares e leveduras associadas**; Dissertação de Mestrado Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto – MG: 2011;

CAMARGO, R.C.R.; PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; WOLFF, L. F. Mel: **Características e propriedades**; Embrapa Meio-Norte, ISSN 0104-866X ; 150; Teresina- PI: 2006;

CAMPOS, G; DELLA MODESTA, R.C. Diferenças sensoriais entre mel floral e mel de melato. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v 59, n.1-2, p. 7-14, 2000.

CAMPOS, G; DELLA MODESTA, R.C.; SILVA, T. J. P.; RASLAN, D. S. Variação de alguns parâmetros do mel de melato em relação ao mel floral. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 60, n. 1, p. 59-64, 2001.

CANADANOVIC-BRUNET, J.; ČETKOVIĆ, G.; ŠAPONJAC, V. T.; STAJČIĆ, S.; VULIĆ, J.; DJILAS, S.; ŠTAJNER, D.; POPOVIĆ, B. Evaluation of phenolic content, antioxidant activity and sensory characteristics of Serbian honey-based product. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 62, p. 1–7, 2014.

CARVALHO, C. A. L.; SOUZA, B. A.; SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L. C.; ALVES, R. M. O. **Mel de abelhas sem ferrão: Contribuição para a caracterização físico-química**; Cruz das Almas - BA: 2005;

CESAR, J. et al. A determinação da densidade de sólidos e líquidos. **Chemkeys**, 2004.

CHERBILIEZ, T., DOMEREGO, R, L'apithérapie, médecine des abeilles. **Edition Amyris**, p. 255. 2003.

CHIAPETTI, E.; BRAGHINI, F. **Comparação das características físico-químicas do mel de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) e abelhas Jataí (*Tetragonisca angustula*);** Trabalho de conclusão de curso, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão-PR: 2013;

CRANE, E. O livro do mel. 2. **Ed. São Paulo**: Nobel, 226, 1987.

CUEVAS-GLORY, L., PINO, J., SANTIAGO, L., SAURIN-DUCH, E., 2007. A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. **Jornal Food Chemistry**, 103, 1032-1043.

EVANGELISTA-RODRIGUES, A.E.; SILVA, E.M.S.; BESERRA, M.F.; RODRIGUES, M. L. Análise físico-química de méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona Scutellaris* produzidos em duas regiões no Estado da Paraíba. **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, Santa Maria - RS: 2005.

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

FONSECA, A. R. P. da. **Reutilização das Células Imobilizadas na Produção de Hidromel. Tese de Mestrado.** Escola Superior Agrária. Instituto Politécnico de Bragança. Bragança, 2013.

GOMES, T. et al. Influence of Sweetness and Ethanol Content on Mead Acceptability. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 65, n. 2, p. 137–142, 2015.

GOMES, T. M.C. **Produção de Hidromel: efeito das condições de fermentação.** Bragança, Portugal: ESA. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia. 2010.

MALDONADE, I. et al. Protocolo para determinação de açúcares totais em hortaliças pelo método de DNS. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**, 1ª Edição, 2013.

IURLINA, M. O., FRITZ, R. Characterization of microorganisms in Argentinean Honeys from different Sources. **International Journal of Food Microbiology**, v.105, n.3 p. 297-304, 2005.

LACHMAN, J.; KOLIHOVÁ, D.; MIHOLOVÁ, D.; DOSTA, J.; TITERA, D.; KULT, K. Analysis of minority honey components: Possible use for the evaluation of honey quality. **Food Chemistry**, v. 23, p. 973-979, 2007.

LASCEVE, G.; GONNET, M. Analysis pour la radioactivité du contenu minéral d'un miel; **Possible de préciser son origine.** **Apidologia**, v. 5, n. 3, p. 201-223, 1974.

LIMA, A.E.F., CASTRO, E.A., FERREIRA, D.A., ABREU, C.M.W.S., COELHO, E.L., COELHO, L.E. & TEIXEIRA D.M.A. Rendimento, caracterização química e atividade antibacteriana do óleo essencial de capim limão coletado em diferentes horários. **Magistra**, vol. 28, pp. 369-378, 2016.

MAGALHÃES, M.S. **Mel e pólen de abelhas *Apis mellifera* como bioindicadores de poluição ambiental por metais pesados**. Dissertação de Mestrado Universidade Federal de Ouro Preto: 2010;

MATTIETTO, R. A.; LIMA, F.C. C.; VENTURIERI, G. C.; ARAÚJO, A. A. **Tecnologia para obtenção artesanal de Hidromel do tipo doce**. Embrapa. Comunicado Técnico 170, p.1-5, 2006.

MENDES, C.G.; SILVA, J.B.A.; MESQUITA L.X.; MARACAJÁ P.B. As análises de mel: revisão; **Revista Caatinga**, Universidade Federal rural do Semi-árido (UFERSA), Mossoró: 2009;

MORAES, L. F. de. **O guia do hydromel artesanal** – 1. Ed. – São Paulo: Editora Livraria da Física, 2018.

ZENEBON, O.; SADOCCO, N.; TIGLEA, P. Métodos físico-químicos para análise de alimentos - **São Paulo: Instituto Adolfo Lutz**, 4ª Edição, 1ª Edição Digital, 2008.

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

PEREIRA, A. P. et al. Mead production: effect of nitrogen supplementation on growth, fermentation profile and aroma formation by yeasts in mead fermentation. **Journal of the institute of Brewing**, v. 121, n. 1, p. 122-128, 2015b.

PEREIRA, A. P. P.; **Caracterização de Mel com vista à Produção de Hidromel**; Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do Grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar; Bragança: 2008.

SILVA, F.L., SUGAUARA, E.Y.Y., MAGALHÃES, H.M., PASCOTTO, C.R., COLAUTO, N.B., LINDE, G.A. & GAZIM, Z.C. **Atividade antimicrobiana do óleo essencial de Capim-santo**, 2014.

SOLAYMAN, M., ISLAM, M., PAUL, S., ALI, Y., KHLIL, M., ALAM, N., e GAN, S. H. Physicochemical properties, minerals, trace elements, and heavy metals in honey of different origins: a comprehensive review, **Magistra**, 2016.

VASCONCELOS, N. et al. Determinação de Açúcares redutores pelo ácido 3,5-dinitrosalicílico: histórico do desenvolvimento do método e estabelecimento de um protocolo para o laboratório de bioprocessos. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**, 1ª Edição, 2013.