

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE DOUTORADO**

**CARACTERIZAÇÃO DE PRODUTOS FERMENTADOS DE MÉIS DE  
ABELHAS SOCIAIS (HYMENOPTERA: APIDAE) DO NORDESTE  
BRASILEIRO**

**PAULA DIB DE CARVALHO**

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA  
FEVEREIRO 2019**

**CARACTERIZAÇÃO DE PRODUTOS FERMENTADOS DE MÉIS DE  
ABELHAS SOCIAIS (HYMENOPTERA: APIDAE) DO NORDESTE  
BRASILEIRO**

**PAULA DIB DE CARVALHO**

Bióloga

Universidade Estadual de Feira de Santana, 2003

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito para a obtenção do Título de Doutor em Ciências Agrárias (Área de Concentração: Fitotecnia).

**Orientadora:** Profa. Dra. Geni da Silva Sodré

**Co-orientadora:** Profa. Dra. Maria Letícia Miranda Fernandes Estevinho

**Co-orientadora:** Dra. Maria Teresa do Rêgo Lopes

**Co-orientador:** Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA**

**FEVEREIRO 2019**

## FICHA CATALOGRÁFICA

C331c

Carvalho, Paula Dib de  
Caracterização de Produtos Fermentados de Méis de  
Abelhas Sociais (*Hymenoptera: Apidae*) do Nordeste Brasileiro  
/ Paula Dib de Carvalho.\_ Cruz das Almas, BA, 2019.  
140.; il.

Orientador: Prof. Dr. Geni da Silva Sodré

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Recôncavo da  
Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas,  
Doutorado em Ciências Agrárias.

1. Abelha - Criação 2. Apicultura 3. Meliponicultura.  
I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de  
Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 638.1

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE DOUTORADO**

**CARACTERIZAÇÃO DE PRODUTOS FERMENTADOS DE MÉIS DE  
ABELHAS SOCIAIS (HYMENOPTERA: APIDAE) DO NORDESTE  
BRASILEIRO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE  
PAULA DIB DE CARVALHO**

Realizada em 11 de Fevereiro de 2019

Profa. Dra. Geni da Silva Sodré  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB  
Examinador Interno (Orientadora)

Profa. Dra. Daniela de Almeida Anacleto  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano - IFBAIANO  
Examinador Externo

Prof. Dr. Fábio de Souza Dias  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB  
Examinador Interno

Profa. Dra. Márcia Luciana Cazetta  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB  
Examinador Externo

Prof. Dr. Ricardo Luís Cardoso  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB  
Examinador Externo

Aos meus pais José Eduardo e  
Selma, com amor.

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias (PPGCAGR) pela concessão da vaga de doutorado.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA Meio Norte) pela inserção no projeto e por doar as amostras de mel utilizadas no estudo.

Ao Instituto Politécnico de Bragança (IPB), Portugal, em especial ao Laboratório de Microbiologia do Curso de Ciências Agrárias, pelo estágio de seis meses e consequente aprendizado extra na área de estudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Código de Financiamento 001 pelo apoio e fornecimento da bolsa no Brasil (Programa CAPES/Embrapa, edital nº015/2014, entre o Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB e a Embrapa Meio Norte) e em Portugal (Chamada de Projetos nº09/2014 – 1º Cronograma - Pesquisador Visitante Especial – Ciência sem Fronteiras entre o Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e o Instituto Politécnico de Bragança).

Aos orientadores e co-orientadores Dra. Geni da Silva Sodré, Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho, Dra. Maria Letícia Estevinho e Dra. Maria Teresa Rêgo por todo o apoio e orientação durante o período do doutorado.

Ao professor Dr. Rogério Marcos de Oliveira Alves pelo apoio, incentivo, ensinamentos e amizade.

Ao professor Antonio Augusto Fonseca pelos bate-papos, uso do destilador de acidez volátil e ajuda em alguns cálculos químicos.

À professora Dra. Fabiane de Lima Silva pela realização de algumas análises estatísticas no decorrer deste estudo.

Aos colegas e ex-colegas do Grupo de Pesquisa Insecta - UFRB, pelo apoio e momentos de descontração, em especial Adailton Freitas, Andreia Nascimento, Brunelle Andrade, Catia Lucas, Claudia Oliveira, Daiane Oliveira, DelzuiteTeles,

Eliaber Barros, Emerson Chambó, Emilene Correia, Fabricio Chagas, Maria das Graças Silva (D. Gal), Polyana Carneiro, Roberto Sampaio, Suelen França e Weliton Andrade.

À Dra. Samira Silva, que me acompanhou em algumas análises laboratoriais e na fase de redação da tese, auxiliando no que foi necessário para a realização do trabalho.

Aos colegas do IPB: Dra. Ana Paula Pereira que me acompanhou por todo o período e pelo treinamento nas diferentes técnicas de elaboração do hidromel; Adriana Machado que ajudou nas análises dos hidroméis; Vanessa Paula que dedicou seu tempo para colaborar em metodologias e cálculos dos compostos bioativos; e Hana Ščepánková que me convidou para acompanhá-la em algumas análises do mel e me ajudou no esclarecimento de dúvidas nesse processo.

Ao Engenheiro Jorge Manuel Sá Morais, do Instituto Politécnico de Bragança, IPB, pelos ensinamentos da técnica do HPLC.

Às funcionárias do Instituto Politécnico de Bragança, IPB: Maria Arminda Marcelo, Fátima Cruz e Maria Durbalina Barreira pelas ajudas, bate-papos, cafezinhos e almoços.

Ao Dr. Fernando Nunes, do Departamento de Química da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal pela ajuda na interpretação dos dados do HPLC.

Aos colegas da UFRB que dividiram disciplinas comigo e fizeram meus dias mais alegres: Castigo Mateus, Claudio Leone, Daniele Vasconcellos, Everton Carvalho, Isabel Nunes, Josemario Bonsucesso, Juliana Nascimento, Laecio Sampaio, Leonardo Barbosa e Silvane Santos.

Aos colegas do grupo “Acadêmicos das Antigas”, além dos meus amigos de caminhada Bethania Cavalcanti, Clariane Vilas Boas, Frankla Lacerda, Grenivel Costa, Lícia Marques, Luciana Amaral, Nara Reis e Patricia Santos.

A toda minha família, em especial meus pais José Eduardo e Selma e meu irmão Leonardo que me incentivaram, encorajaram e ajudaram não apenas neste período, mas em toda a minha vida.

## SUMÁRIO

	Página
<b>RESUMO</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>1</b>
<b>ARTIGO 1</b>	
QUALIDADE E PROPRIEDADES BIOATIVAS DOS MÉIS DE ABELHAS SOCIAIS (HYMENOPTERA: APIDAE) DO ESTADO DO PIAUI.....	32
<b>ARTIGO 2</b>	
EFEITO DA CONCENTRAÇÃO E DO TIPO DE NUTRIENTE NA PRODUÇÃO DE HIDROMEL.....	63
<b>ARTIGO 3</b>	
MÉIS DE ABELHAS COM E SEM FERRÃO INFLUENCIAM O PERFIL SENSORIAL DOS HIDROMÉIS? .....	90
<b>ARTIGO 4</b>	
CARACTERIZAÇÃO DE VINAGRES DE MÉIS DE <i>Apis mellifera</i> E <i>Melipona fasciculata</i> DO NORDESTE BRASILEIRO.....	113
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>131</b>



# CARACTERIZAÇÃO DE PRODUTOS FERMENTADOS DE MÉIS DE ABELHAS SOCIAIS (HYMENOPTERA: APIDAE) DO NORDESTE BRASILEIRO

**Autora:** Paula Dib de Carvalho

**Orientadora:** Dra. Geni da Silva Sodré

**RESUMO:** A produção de bebidas fermentadas é uma boa opção de renda para os apicultores e meliponicultores, permitindo maior agregação de valor ao mel e aos subprodutos com grande potencial comercial, como hidromel e vinagre de mel. O hidromel é uma bebida resultante da fermentação alcoólica da mistura de água e mel. Já o vinagre de mel é o produto obtido da fermentação acética do hidromel. O objetivo do presente estudo foi a caracterização de produtos fermentados a base de méis de abelhas sociais do Nordeste brasileiro. Primeiramente, procedeu-se a caracterização físico-química e a avaliação de segurança microbiológica dos méis utilizados na produção dos hidroméis e dos vinagres. Os méis apresentaram perfis físico-químicos e microbiológicos adequados ao consumo humano. Em seguida, foram produzidos cinco tipos de hidroméis com diferentes concentrações de nutrientes e pólen apícola. A utilização de diferentes tipos e concentrações de nutrientes, além dos diferentes tipos de méis, mostrou diferenças estatísticas significativas nos produtos, exceto nos hidroméis de *Apis mellifera* 5 e *Melipona fasciculata* 5. Apenas os hidroméis de *A. mellifera* 4 e *M. fasciculata* 4 não completaram a fermentação, permanecendo com um maior remanescente de açúcares residuais. Todos os hidroméis produzidos encontraram-se dentro dos padrões da legislação brasileira para hidromel e estão adequados ao consumo humano. Para análise sensorial, foram produzidos quatro tipos de hidroméis. O produto com maior grau de aceitação pelos consumidores foi o hidromel de *A. mellifera* 1. Na última fase do estudo, foram produzidos dois tipos de vinagres a partir de méis de *A. mellifera* e *M. fasciculata*. Os vinagres de méis apresentaram-se dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira para vinagre, exceto no quesito acidez volátil.

**Palavras-chaves:** Apicultura, meliponicultura, fermentação, produtos da colmeia.

# CHARACTERIZATION OF FERMENTED PRODUCTS OF SOCIAL BEES (Hymenoptera: APIDAE) HONEY FROM BRAZILIAN NORTHEAST.

Author: Paula Dib de Carvalho  
Adviser: Dra. Geni da Silva Sodré

**ABSTRACT:** The production of fermented beverages is a good income option for beekeepers, allowing a greater aggregation of value to honey and consequent development of new products with great commercial potential, such as mead and honey vinegar. Mead is a beverage resulting from the alcoholic fermentation of the mixture of water and honey. The honey vinegar is the product obtained from the acetic fermentation of mead. The aim of the present study is the characterization of fermented products based on honey bees from the Brazilian Northeast region. Firstly, the physico-chemical characterization and the microbiological safety evaluation of the honeys used in the production of the meads and the vinegars were carried out. The honeys presented physical-chemical and microbiological profiles suitable for human consumption. Then, five types of meads with different concentrations of nutrient salts and bee pollen were produced. The use of different types and concentrations of nutrients, in addition to the different types of honeys, showed significant statistical differences in the products, except in the meads of *Apis mellifera* 5 and *Melipona fasciculata* 5. Only the meads of *A. mellifera* 4 and *M. fasciculata* 4 do not complete the fermentation, remaining with a greater residual of residual sugars. All the meads produced are within the standards of Brazilian legislation and are suitable for human consumption. For sensory analysis, four types of meads were produced. The product with the highest level of acceptance by consumers was the mead of *A. mellifera* 1. In the last phase of the study, two types of vinegars were produced by *A. mellifera* and *M. fasciculata* honeys. The honey vinegars were within the standards required by Brazilian legislation, except in the case of volatile acidity.

**Keywords:** Beekeeping, meliponiculture, fermentation, beehive products.

## REFERENCIAL TEÓRICO

As abelhas são insetos que necessitam de alta demanda de alimentos retirados das flores, o que as tornam dependentes das espécies vegetais. Essa associação abelha-flor provavelmente teve início há mais de 50 milhões de anos e quase não sofreu mutações durante este tempo (GODOY; MUCHAGATA; BASSAN, 2013). A maioria das plantas melhora seu rendimento em frutos e sementes quando polinizada pelas abelhas, contribuindo para aumentar a produção agrícola mundial (VENTURIERI et al., 2012; LIRA et al., 2014). Quando há perdas de diversidade de abelhas ou incompatibilidades entre espécies de plantas e de polinizadores, a produção agrícola pode ficar comprometida (BEZERRA et al., 2019). Por outro lado, práticas amigáveis aos polinizadores favorecem a produção agrícola (HIPÓLITO; VIANA; GARIBALDI, 2016).

A relação de interdependência abelha-flor possibilita o desenvolvimento de técnicas de manejo das abelhas de forma sustentável (QUEZADA-EUÁN et al., 2018), mas para isso é necessário conhecer as espécies vegetais que fornecem recursos para as abelhas (LIMA et al., 2017; FREITAS; VANDERBORGHT; BARTH, 2017). Esse conhecimento permite identificar as espécies vegetais visitadas pelas abelhas (LUCAS et al., 2017; DÓREA et al., 2017) e indicar aos criadores de abelhas as fontes adequadas de suprimentos de pólen e néctar (SODRÉ et al., 2008; NASCIMENTO, CARVALHO; MARTINS, 2014).

O Brasil é considerado um país com elevado potencial para a exploração das abelhas, especialmente as abelhas sociais e os produtos das suas colônias, devido às características da sua flora diversificada em diferentes biomas e condições climáticas (SABBAG; NICODEMO, 2011). Essa condição permite a produção durante todo o ano, como é o caso do mel. Alguns Estados da federação se destacam na produção de mel, como é o caso do Piauí, onde esse produto é um importante componente para a exportação (COSTA JUNIOR et al., 2017).

A criação de abelhas sociais é dividida em apicultura e meliponicultura (ALMEIDA-MURADIAN et al., 2013). Ambas são consideradas importantes para o desenvolvimento da economia do setor agropecuário, pois se adequam à produção integrada por não interferir na área de outras atividades agrícolas desenvolvidas em uma mesma propriedade (GOIS et al., 2013). A maioria da

apicultura do mundo é feita com a espécie *Apis mellifera* (CRANE, 2009). Contudo, o interesse pela meliponicultura vem crescendo devido às características peculiares da bioecologia, potenciais serviços de polinização (VENTURIERI et al., 2012) e os diferentes produtos (NASCIMENTO et al., 2015; BÁRBARA et al., 2018) e subprodutos (SILVA et al., 2018) das colônias dessas abelhas.

Neste cenário, se destaca o mel dos meliponíneos, que difere do mel de *Apis mellifera* principalmente pelo sabor e aroma, valorizando esse produto no mercado (LIRA et al., 2014). Dentre as espécies de meliponíneos com potencial de exploração para a produção de mel, encontram-se as do gênero *Melipona*, cujo produto tem sido objeto de diferentes estudos (NASCIMENTO et al., 2015; CARDONA et al., 2018; NASCIMENTO et al., 2018; VALE et al., 2018).

Contudo, o mel das espécies de *Melipona* não está incluído nas normas nacionais (BRASIL, 2000) e internacionais para mel (CAC, 2001). Um regulamento técnico de qualidade físico-química do mel de abelhas sem ferrão do gênero *Melipona* para o estado da Bahia foi elaborado para enquadrar o produto em determinado padrão de qualidade (ADAB, 2014).

### **Características do mel**

O mel é um alimento natural composto por diferentes substâncias, que consistem principalmente de açúcares, água, proteínas, aminoácidos, ácidos orgânicos, carotenóides, vitaminas, minerais, pigmentos e compostos voláteis (FINOLA; LASAGNO; MARIOLI, 2007; ESCUREDO et al., 2013). É rico em flavonoides e ácidos fenólicos que exibem uma ampla gama de efeitos e atuam como antioxidantes naturais (ORYAN; ALEMZADEH; MOSHIRI, 2016). A composição, cor, aroma e sabor do mel dependem principalmente da flora utilizada pelas abelhas, da origem geográfica, do clima e das espécies de abelhas envolvidas em sua produção (CRANE, 1985). Além disso, essas características podem ser afetadas pelas condições climáticas, o processamento, a manipulação, a embalagem e o tempo de armazenamento (SOLAYMAN et al., 2016).

Na composição do mel, os carboidratos são os componentes mais abundantes. Os monossacarídeos (frutose e glicose) representam a maior parte dos açúcares encontrados, seguido por cerca de 25 oligossacarídeos, entre eles a

sacarose (dissacarídeo) e outros açúcares (ANKLAM, 1998). Esses carboidratos são responsáveis por características físico-químicas importantes do mel, como viscosidade, higroscopicidade e valor energético (KAMAL; KLEIN, 2011).

A glicose possui maior solubilidade em relação à frutose, sendo que a sua concentração determina a tendência do mel cristalizar. Já a frutose está relacionada com a doçura do mel (FINOLA et al., 2007).

O segundo componente em abundância no mel é a água, variando de 15 a 21% no mel de *A. mellifera* (SEEMANN; NEIRA, 1988) e podendo ultrapassar a 30% nos méis de meliponíneos (CARVALHO et al., 2009). O conteúdo de água no mel é influenciado pela origem botânica do néctar, da espécie de abelha, do nível de maturidade alcançado pelo mel no interior da colmeia, das técnicas de processamento e das condições de estocagem (YÜCEL; SULTANOGLU, 2013). O teor de umidade e a atividade de água no mel são fatores importantes na preservação da qualidade do produto (SNOWDON; CLIVER, 1996). A umidade elevada pode aumentar o processo fermentativo do mel (LOKOSSOU et al., 2017), que é causado pela ação de leveduras osmofílicas, principalmente do gênero *Saccharomyces*, o que resulta na formação de etanol e dióxido de carbono (SNOWDON; CLIVER, 1996).

A proteína presente no mel é proveniente principalmente das fontes florais (especialmente dos grãos de pólen) e das enzimas das abelhas durante o processamento do néctar (ANKLAM, 1998). Diversas enzimas encontradas no mel são importantes em diferentes processos, como a diastase que está relacionada com a digestão da molécula de amido presente principalmente nos grãos de pólen (PAMPLONA, 1989), além de ser um parâmetro que pode ser utilizado no controle de qualidade do mel (YÜCEL; SULTANOGLU, 2013), como indicador do aumento da temperatura durante o armazenamento ou quando o produto é submetido a aquecimento acima de 60 °C (CHAIKHAN; KEMSAWASD; APICHARTSRANGKOON, 2016); a invertase, que transforma a maior parte da sacarose em glicose e frutose (CABRAL, 2012); e a glicose-oxidase e catalase que são importantes na propriedade antioxidante do mel (WESTON, 2000).

Os aminoácidos livres também estão presentes no mel, sendo que o mais abundante é a prolina, representando por cerca de 50 a 85% do total de aminoácidos (WHITE JUNIOR, 1978). Outros aminoácidos também têm sido

detectados no mel e podem determinar tipos específicos de méis, como a arginina, triptofano e cisteína (ANKLAM, 1998).

Os ácidos orgânicos são responsáveis pela acidez e também contribuem para o sabor característico dos méis. Dentre os conhecidos, encontra-se o ácido glucônico, resultante da digestão enzimática da glicose (KARABAGIAS et al., 2014), além de outros como os ácidos pirúvico, málico, cítrico, succínico e fumárico (ANKLAM, 1998). A presença desses ácidos influencia diretamente o pH do mel, que é considerado ligeiramente ácido (KARABAGIAS et al., 2014). O pH do mel de *A. mellifera* pode variar entre 3,4 e 6,1 (CAC, 2001; IURLINA; FRITZ, 2005) e sua determinação pode estar correlacionada com outros parâmetros de autenticidade para verificar adulterações no produto. A acidez livre também é um parâmetro importante relacionado à deterioração de mel e se caracteriza pela presença de ácidos orgânicos em equilíbrio com a lactona, ésteres internos e alguns íons inorgânicos (MOREIRA et al., 2007). A presença de diferentes ácidos orgânicos, origem geográfica e a época da colheita podem afetar a acidez do mel (TORNUK et al., 2013).

Outro parâmetro importante na determinação da qualidade do mel é o teor de resíduos minerais fixos ou cinzas, uma vez que expressa os teores de minerais presentes, refletindo componentes químicos das fontes de néctar e pólen utilizadas pelas abelhas (ALQARNI; OWAYSS; MAHMOUD, 2012; ESCUREDO et al., 2013).

O hidroximelfurfural (HMF) é utilizado para avaliar a qualidade do mel, já que geralmente não é encontrado no mel verde, sendo que sua concentração aumenta com o tempo, em função do acondicionamento e armazenamento (TORNUK et al. 2013). A formação do HMF ocorre quando o mel é aquecido ou armazenado por muito tempo, aliada às propriedades químicas do mel, como pH, acidez total e conteúdo de minerais (SILVA et al., 2016). O alto conteúdo de HMF em méis também pode ser indicação de falsificação por adição xarope invertido (YÜCEL; SULTANOGLU, 2013).

Os compostos fenólicos, ácidos fenólicos e flavonoides do mel são considerados marcadores potenciais da sua origem botânica. O conteúdo de compostos fenólicos totais pode refletir a capacidade antioxidante e outras propriedades biológicas da amostra, além de influenciarem a coloração, sabor e aroma (ESTEVINHO et al., 2008; SGHAIER et al., 2011; ALVAREZ-SUAREZ et

al., 2012). Normalmente os méis claros contém menores teores de compostos bioativos do que méis mais escuros e são considerados mais delicados em relação ao sabor (BUENO-COSTA et al., 2016).

Um parâmetro que depende do conteúdo de cinzas, de compostos fenólicos, da temperatura a que o mel permanece na colmeia e do tempo de armazenamento é a cor. Ela é bastante variável e principalmente determinada pela origem botânica. É o primeiro atributo atraente do mel e é importante para a comercialização, qualidade, aceitação e preferência dos consumidores (GÁMBARO; AIRES; GIMÉNEZ, 2007; SILVA et al., 2016).

Além das propriedades físico-químicas, a microbiota também é outro indicador importante da qualidade. O mel, devido às características físico-químicas e ao seu controle na indústria apresenta, geralmente, tipos e quantidades pequenas de microrganismos. A presença de compostos fenólicos e da enzima glicose oxidase, que converte a glicose em ácido D-glicônico e peróxido de hidrogênio, também proporciona uma barreira ao desenvolvimento dos microrganismos devido à forte característica oxidante destes compostos (DE MARIA; MOREIRA, 2003).

A quantidade de bactérias presente no mel pode variar com o seu tipo, tipo da amostra, idade, tempo de colheita e técnica de análise utilizada. Estudos realizados por Matuella e Torres (2000) indicam que os principais grupos de bactérias existentes no mel, em fase de amadurecimento, pertencem ao gênero *Gluconobacter* e *Lactobacillus*. De acordo com Finola et al. (2007) e Estevinho et al. (2012), os fungos filamentosos mais recorrentes no mel são *Penicillium* e *Mucor*, enquanto que, Migdal et al. (2000) consideraram como leveduras mais importantes espécies de *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* e *Torula*. Porém, os microrganismos de maior interesse para uma boa qualidade do mel são alguns fungos e bactérias formadores de esporos, como *Bacillus cereus* e *Clostridium* spp. que sob certas condições, podem causar graves doenças em seres humanos, como é o caso da espécie *Clostridium botulinum* (SNOWDON; CLIVER, 1996). Essa bactéria pode ser encontrada no solo, no ar e em plantas (GRABOWSKI; KLEIN, 2017).

No Brasil, o controle de qualidade de méis de *A. mellifera* restringe-se às análises físico-químicas, mas diversos laboratórios já realizam análises palinológicas de mel (OSTERKAMP; JASPER, 2013).

A determinação da origem botânica do mel pode ser realizada pela análise do espectro polínico presente no mel (BARTH, 2004). A melissopalínologia é um importante parâmetro para a identificação da origem botânica e geográfica do mel, além de contribuir na detecção de adulteração. Diferentes estudos utilizaram essa técnica para identificar e caracterizar os méis (LUZ; BARTH, 2012; ALMEIDA-MURADIAN et al., 2013; ESTEVINHO et al., 2016; CORREIA; FRANCISCO; PERUQUETTI, 2017). A melissopalínologia também pode agregar valor ao mel em diferentes situações, como por exemplo, na determinação do mel monofloral (BENDINI; SOUZA, 2008).

### **Pólen apícola**

O pólen apícola resulta da aglutinação do pólen das flores, com pequenas quantidades de néctar ou mel e substâncias salivares das abelhas operárias (ARRUDA et al., 2013). Ele é considerado monofloral, quando mantém as propriedades sensoriais e bioquímicas da planta original e multifloral quando possui propriedades bioquímicas variáveis, devido às abelhas visitarem uma grande variedade de flores (CARPES et al., 2013).

A composição do pólen apícola depende fortemente da sua origem vegetal, mas também de outros fatores como as condições climáticas, tipo de solo e época de colheita (ESTEVINHO et al., 2012). O pólen apícola desidratado é composto por açúcares totais (28 a 66%), hidratos de carbono (13 a 15%), fibras (0,3 a 20%), proteínas (3 a 62%) e lipídios (1 a 13%) conferindo-lhe excelentes potencialidades nutricionais, não apenas para as abelhas, mas também para o consumo humano, pois contém todos os aminoácidos essenciais (KOSTIC et al., 2015). Ele tem sido utilizado também como fonte suplementar de nutrientes no enriquecimento de bebidas fermentadas a base de mel (hidromel), auxiliando no processo fermentativo.

O pólen apícola contém compostos fenólicos, principalmente flavonoides glicosilados e derivados de ácidos hidroxicinâmicos (FATROCOVÁ-ŠRAMKOVÁ et al., 2013), que agem como antioxidantes naturais. Vários relatos o associam com efeitos benéficos na prevenção de problemas da próstata, arteriosclerose, gastroenterite, doenças respiratórias, alergias, melhoria dos sistemas cardiovascular e digestivo e atraso do envelhecimento. Estes efeitos terapêuticos



e protetores são atribuídos ao teor de polifenóis existentes (PASCOAL et al., 2014).

No Brasil, o pólen apícola para ser comercializado, tem que apresentar os seguintes requisitos: umidade máxima de 30% para pólen fresco e 4% para pólen seco; teor em cinzas com valor máximo de 4%; teor em proteínas com mínimo de 8% e teor em açúcares totais de 14,5 a 55%. Para os lipídios o teor mínimo é 1,8% variando o pH entre 4 a 6 (BRASIL, 2001).

### **Fermentações alcoólica e acética**

O processo da fermentação alcoólica consiste na oxidação anaeróbica parcial da glicose pela ação de leveduras, produzindo etanol e gás carbônico, dentre outros produtos secundários (FIORO; DALPOSSO, 2011). O processo se inicia com a ativação da glicose, que recebe em reações sucessivas dois fosfatos energéticos, fornecidos por duas moléculas de ATP (adenosina trifosfato) que se transforma em ADP (adenosina difosfato). Então, a glicose transforma-se em gliceraldeído 1,3-difosfato. Cada gliceraldeído formado, no final, é transformado em ácido pirúvico, com o rendimento de duas moléculas de ATP para cada molécula de glicose utilizada (CORAZZA; RODRIGUES; NOZAKI, 2001; FIORIO; DALPOSSO, 2011). De acordo com Aquarone et al. (2001), na fermentação alcoólica ocorre uma reação exotérmica, onde temperaturas em torno de 25 a 30 °C contribuem para que ocorra menor perda e também um maior rendimento de álcool, devido à fermentação ocorrer de forma mais completa.

Por outro lado, o processo fermentativo acético se baseia na oxidação parcial do etanol em acetaldeído, que forma uma reação aeróbia. Nessa reação estão presentes as bactérias acéticas, que, com a ação da enzima álcool desidrogenase (converte o álcool em acetaldeído) e adição de água, dá origem ao hidrato de acetaldeído (PEREIRA, 2014). Dentre os produtos das fermentações alcoólica e acética, destacam-se o hidromel e o vinagre.

### **Hidromel: histórico e conceito**

O hidromel é uma bebida alcóolica resultante da fermentação do mel e consumida por diversas civilizações desde a antiguidade. É considerado uma das

primeiras bebidas fermentadas produzida na África há milhares de anos, cuja produção foi registrada 2.000 anos a.C. Sua origem é anterior ao vinho e de acordo com descobertas arqueológicas também houveram indícios de sua produção na China há 9.000 anos, entre outros povos que fabricavam e consumiam a bebida, como os romanos, gregos, celtas saxões e vikings (PIATZ, 2014).

O hidromel se expandiu pela Europa até atingir os mosteiros, onde os monges que se dedicavam à apicultura também produziam a bebida (PIATZ, 2014). Tornou-se bastante popular no norte da Europa, onde a uva não encontrava as condições necessárias para o seu desenvolvimento. Contudo, essa situação mudou com a importação de vinho da região sul do continente, de menor custo, o que reduziu o consumo da bebida (PEREIRA et al., 2009). Na América Latina, enquanto a Argentina e a Bolívia se destacam na produção e consumo de hidromel, no Brasil esse produto ainda não é muito conhecido, apesar da sua viabilidade econômica (ANUNCIAÇÃO et al., 2017).

É uma bebida tradicional, contendo 4-14% (v/v) de etanol, resultante da fermentação alcoólica de uma mistura de água e mel (BRASIL, 2008). Essa fermentação é um processo demorado e a sua *performance* depende de vários fatores, principalmente o tipo do mel, estirpe e nutrição da levedura, controle de temperatura e do pH (GOMES et al, 2013).

### **Produção de hidromel: matérias-primas**

A produção de hidromel requer fatores importantes e fundamentais ao sucesso do produto, tais como, a qualidade da matéria prima utilizada, os agentes da fermentação (leveduras), os aditivos (nutrientes), as operações unitárias de produção, a maturação, entre outros. A forma de preparo do mosto, caracterizado pela mistura do mel, água e nutrientes, é o que define os diferentes tipos de hidroméis. Neste processo, há forte influência da concentração de açúcares na determinação do final da fermentação (GUPTA; SHARMA, 2009).

Para a produção de hidromel, a água necessariamente deve ser potável, incolor, inodora e livre de qualquer sabor e aroma estranho e/ou desagradável, obedecendo às normas e aos padrões aprovados pela legislação específica para

água potável e estar condicionada, exclusivamente, à padronização da graduação alcoólica do produto (BRASIL, 2008).

O tipo de mel utilizado também é importante na produção de hidromel, uma vez que se trata de uma matriz de composição complexa, influenciado por diversos fatores (GOMES et al., 2013). No estudo conduzido por Pereira et al. (2009) foi observado que os melhores resultados foram obtidos para mosto elaborado com mel mais escuro, pois continha maior conteúdo mineral e pH, além de apresentar maior quantidade de compostos fenólicos e maior poder antioxidante.

As altas concentrações de açúcares fermentescíveis encontradas no mel não são suficientes para estimular o crescimento das leveduras, sendo necessária a adição de outros ingredientes, como fontes de nitrogênio e minerais (GUPTA; SHARMA, 2009). Dessa forma, a produção de hidromel demanda tempo para que ocorra a fermentação adequada (GOMES et al., 2013).

As limitações devido as fontes de nitrogênio estão relacionadas com a escassez de compostos nitrogenados, que podem ser associados com o atraso ou interrupção da fermentação e a formação de compostos que afetam negativamente as características sensoriais do hidromel (VIDRIH; HRIBAR, 2007). Quando ocorreu a adição de diamônio fosfato houve favorecimento do crescimento celular, assim como o aumento da velocidade de fermentação alcoólica e a redução da produção de álcoois superiores (MENDES-FERREIRA et al., 2010). Esses autores também verificaram uma elevação nas concentrações dos compostos associados ao aroma ao hidromel.

Méis com maior quantidade de pólen apresentam fermentação mais rápida e maiores quantidades de compostos voláteis no hidromel (VIDRIH; HRIBAR, 2007). A concentração de nitrogênio disponível para as leveduras pode ser incrementada pela adição de pólen apícola, que também favorece a cinética da fermentação (ROLDÁN et al., 2011). Além disso, esses autores observaram que, nos hidroméis obtidos de mostos suplementados com pólen houve aumento do pH.

Outros fatores importantes para o desenvolvimento do processo fermentativo são o tratamento térmico e a seleção de leveduras. O tratamento térmico do mosto é importante para reduzir a microbiota no meio, evitando a

interferência no processo fermentativo (WINTERSTEEN; ANDRAE; ENGESETH, 2005; IGLESIAS et al., 2014). Apesar de se encontrar alguns tipos de técnicas para o tratamento térmico na literatura, não existe um parâmetro otimizado, especialmente para reduzir perdas de atributos sensoriais, como diversos voláteis (MANCILLA-MARGALLI; LOPEZ, 2002; WINTERSTEEN et al., 2005). Pereira et al. (2014) realizaram a pasteurização do mosto mel a 65°C por 10 minutos e em seguida resfriaram em banho de gelo ocasionando um choque térmico.

Normalmente, as leveduras utilizadas na produção de hidromel são provenientes de culturas *starters*, utilizadas na produção de outras bebidas fermentadas, como vinho, cerveja e espumante. Por isso, não se tem garantias de que essas leveduras se adaptem bem ao mosto mel, devido às suas características, especialmente relacionadas com a maior concentração de açúcares e menor concentração de nitrogênio (PEREIRA et al., 2009). Uma opção para favorecer o crescimento da levedura selecionada é adicionar ácidos orgânicos (ácido tartárico, cítrico ou málico), de forma a ajustar o pH e equilibrar a acidez fixa da bebida final (PEREIRA et al., 2014).

### **Processo fermentativo e problemas na fermentação do hidromel**

A elevada concentração de açúcar presente no mosto mel normalmente deixa a fermentação mais lenta, o que requer ações para acelerar esse processo. Dessa forma, o uso de cepas de leveduras selecionadas, as condições ótimas de pH e de temperatura e a suplementação nutricional adequada, são fatores que devem ser observados para uma fermentação adequada (RAMALHOSA et al., 2011). Além do elevado teor de açúcares, a dificuldade observada no processo de fermentação do hidromel se deve também à presença de compostos inibidores presentes na própria matriz mel (ANJOS, FRAZÃO, CALDEIRA, 2017).

As consequências de uma maior lentidão no processo fermentativo é o possível surgimento de bactérias produtoras de ácidos acético e láctico, que aumenta a acidez do mosto mel e promove a produção de ésteres voláteis (CASELLAS, 2005). Esses ésteres também podem alterar a qualidade sensorial do hidromel (RAMALHOSA et al., 2011).

De acordo com Pereira et al. (2013), o tamanho do inóculo é inversamente proporcional ao tempo de fermentação para a estabilização da concentração de açúcares redutores. As menores concentrações de inóculo também interferem nas concentrações de compostos que alteram o perfil aromático do hidromel. Por outro lado, Pereira et al. (2009) verificaram que a concentração do inóculo não alterou o pH, a acidez titulável e a concentração final de etanol, mas aumentou a acidez volátil, expressa em ácido acético.

O pH do mosto decresce durante a fermentação e pode atingir um nível limitante para a atividade das leveduras (RAMALHOSA et al., 2011). A redução do pH do mosto mel pode ocorrer devido à síntese dos ácidos acético e succínico pelas próprias leveduras (SROKA; TUSZYNSKI, 2007).

Outro fator importante é a temperatura de fermentação. De acordo com o estudo de Gomes et al. (2013), a temperatura não teve influência relevante na concentração final de etanol, mas ocorreu um aumento na concentração de ácido acético quando se utilizou temperaturas acima de 29 °C e concentrações superiores a 90 mg/L de *Enovit*®. Por outro lado, Guerra e Barnabé (2005) verificaram que temperaturas baixas permitem maior rendimento em álcool e menor perda por evaporação.

Ainda são muitos os desafios na busca de entender todas as etapas do processo de produção do hidromel, que vão desde a qualidade das cepas até a uniformidade da complexa matriz que é o mel. Diversos estudos buscam solucionar alguns desses problemas, como o uso de células imobilizadas na produção de hidromel (NAVRÁTIL; STURDÍK; GEMEINER, 2001); a influência da composição do mosto mel (PEREIRA et al., 2009); o efeito das condições de fermentação (GOMES et al., 2013); a influência do teor de doçura e do etanol na aceitabilidade do hidromel (GOMES et al., 2015); o uso de méis de outras espécies de abelhas (SILVA et al., 2018), dentre outros.

### **Vinagre: histórico e conceito**

Desde a antiguidade, numerosos tipos de vinagres têm sido considerados bebidas saudáveis e usadas para fins medicinais. Estudos tem evidenciado a atividade antibacteriana, anti-infecciosa e antioxidante (BUDAK et al., 2014); o regulamento do metabolismo lipídico e a perda de peso (PETSIOU et al. 2014); os

efeitos anticancerígenos, antidiabéticos e redução dos níveis de colesterol no sangue (SALBE et al., 2009). Ácidos orgânicos, polifenóis, melanoidinas, ligustrazina, cafeo-lisoforose e triptofol são alguns dos compostos bioativos identificados em vinagres (CHEN et al., 2016).

O vinagre é um líquido de sabor azedo (ácido) obtido a partir da fermentação alcoólica do mosto por leveduras seguido pela oxidação do etanol a ácido acético por bactérias (HO et al., 2017). A Instrução Normativa N° 6 de 3 de abril de 2012 do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) do Brasil estabelece a classificação e denominação do fermentado acético obtido de diferentes tipos de matérias-primas (Quadro 1).

**Quadro 1** - Classificação e denominação dos fermentados acéticos elaborados de diferentes matéria-prima. Fonte: BRASIL (2012).

<b>Composição ou forma de obtenção</b>	<b>Classificação</b>	<b>Fermentado acético</b>	<b>Vinagre</b>
Fermentação acética do fermentado alcoólico de mistura hidroalcoólica originária do álcool etílico potável de origem agrícola;	álcool	Fermentado acético de álcool	Vinagre de álcool
Fermentação acética do fermentado alcoólico de uma ou mais frutas;	fruta	Fermentado acético de fruta	Vinagre de fruta
Fermentação acética do fermentado alcoólico de um ou mais cereais;	cereal	Fermentado acético de cereal	Vinagre de cereal
Fermentação acética do fermentado alcoólico de um ou mais vegetais;	vegetal	Fermentado acético de vegetal	Vinagre de vegetal
Fermentação acética do fermentado alcoólico de duas ou mais das seguintes matérias-primas: fruta, cereal e vegetal;	misto	Fermentado acético de misto de vegetais	Vinagre misto de vegetais
Fermentação acética do fermentado alcoólico de mel de abelha;	mel	Fermentado acético de mel	Vinagre de mel

**Quadro 1** - Classificação e denominação dos fermentados acéticos elaborados de diferentes matéria-prima. Fonte: BRASIL (2012). Continuação.

Composição ou forma de obtenção	Classificação	Fermentado acético	Vinagre
Fermentado acético adicionado de suco de fruta ou suco de vegetal ou de mel de abelha, em conjunto ou separadamente;	composto	Fermentado Acético de (nome genérico do fermentado acético) Composto	Vinagre de (nome genérico do vinagre) Composto
Fermentado acético adicionado de condimento;	condimentado	Fermentado acético de (nome genérico do fermentado acético) condimentado	Vinagre de (nome genérico do vinagre) condimentado
Fermentado acético de fermentado alcoólico com acidez volátil superior a oito gramas de ácido acético por cem mililitros do produto;	Duplo	Fermentado acético duplo	Vinagre duplo
Fermentado acético de fermentado alcoólico com acidez volátil superior a doze gramas de ácido acético por cem mililitros do produto	Triplo	Fermentado acético triplo	Vinagre triplo

Dados fornecidos pela Associação Nacional das Indústrias de Vinagre (ANAV) apontam que dos 170 milhões de litros de vinagre consumidos anualmente no Brasil, cerca de 80% corresponde ao vinagre de álcool. A região Sudeste responde por 53% do consumo do produto em território nacional, seguido pelas regiões Sul (23%), Norte-Nordeste (19%) e Centro-Oeste (5%) (ANAV, 2014). Estima-se que o consumo nacional per capita de vinagre seja de, aproximadamente, 2 litros por ano, pois o vinagre é utilizado basicamente como tempero. Esse índice de consumo é superior ao observado nos Estados Unidos e na Europa, que utilizam o vinagre também para outros fins (UVIBRA, 2012).

### **Produção de vinagre**

Para a obtenção de vinagre, dois métodos podem ser utilizados, como o que consiste na acetificação à superfície do meio de cultura e o processo conhecido como submerso (SUAREZ-LEPE; IÑIGO-LEAL, 2004). O processo

submerso é o mais utilizado e consiste em deixar as bactérias acéticas submersas no interior do líquido, no qual se introduz oxigênio (oxidação acética) (MAS et al., 2014).

Entre as bactérias utilizadas neste processo, a *Acetobacter aceti* se destaca por ser frequentemente utilizada na indústria do vinagre (TESFAYE et al., 2002). Ela inicia imediatamente o processo de fermentação, porém, quando a concentração de ácido acético excede 5%, outras espécies bacterianas assumem o processo (MAS et al., 2014). Outra bactéria utilizada é a *Gluconobacter* que permite um distintivo *flavour* ao vinagre e pode oxidar o etanol a ácido acético sob condições ácidas (SAEKI, 1993). Dessa forma, o uso de culturas mistas de bactérias normalmente garante a melhor qualidade do vinagre produzido, quando comparado com culturas puras (MAS et al., 2014).

As culturas mais indicadas para o uso comercial devem apresentar as seguintes características: produzir concentrações elevadas de ácido acético; não formar material viscoso; não completar a oxidação até anidrido carbônico e água; apresentar tolerância a concentrações razoáveis de etanol e ácido acético; ter eficiência fermentativa em temperaturas entre 25 e 30 °C; e apresentar desenvolvimento satisfatório em pH que varia entre 5,4 e 6,3 (AQUARONE et al., 2001; LEONEL; SUMAN; GARCIA, 2015).

Com relação aos processos utilizados na produção de vinagre se destacam o Processo de Orleans, o Processo Alemão e o Processo Submerso (AQUARONE et al., 2001)

No Processo de Orleans, o vinagre é elaborado em barril de carvalho ou de outra madeira que não confira propriedades sensoriais indesejáveis ao produto. A temperatura pode ser ambiente, mas não deve exceder os 25 °C para evitar evaporação do álcool (ARAÚJO; SILVA; ABUD, 2012). O processo é lento, tem baixa produtividade e é utilizado em pequena escala, contudo este método proporciona vinagres de boa qualidade (CEREZO et al., 2008).

No Processo Alemão a superfície do material é colonizada pelas bactérias acéticas, que oxidam o etanol a ácido acético. Embora seja mais rápido e se obtém um vinagre de boa qualidade, o rendimento é baixo e há necessidade de clarificação e filtração do produto (AQUARONE et al., 2001).



O Processo Submerso é método mais utilizado industrialmente, no qual as bactérias acéticas ficam suspensas no líquido, sendo aplicada uma forte aeração para assegurar a demanda de oxigênio (TESFAYE et al., 2002).

Uma revisão sobre os processos e os substratos para produção de vinagres foi publicada por Siepmann, Canan e Colla (2015). Esses autores concluíram que na produção de vinagre ainda há espaço para explorar substratos alternativos, tais como resíduos agroindustriais de baixo custo e com composição favorável em açúcares e compostos funcionais, visando um produto final com benefícios para a saúde dos consumidores.

### **Processo fermentativo e problemas na fermentação do vinagre**

A fermentação acética deve ser controlada de forma a não prejudicar o trabalho das bactérias e, conseqüentemente, a qualidade do vinagre. Dentre os fatores a serem controlados se encontram a concentração alcoólica, a acidificação inicial, o suprimento de oxigênio, a perturbação da película de bactérias, a temperatura e o pH (MARTINELLI-FILHO, 1982; LEONEL et al., 2015).

De acordo com Leonel et al. (2015), a concentração alcoólica acima de 13% dificulta a acetificação do produto, já que o álcool é oxidado de maneira incompleta. Além disso, deve haver uma acidez inicial no líquido a ser acidificado, pelo qual é normal a adição de vinagre forte não pasteurizado. O suprimento de oxigênio deve ser constante durante a fermentação e a temperatura mantida entre 27 e 30 °C. O pH ótimo para o crescimento de bactérias acéticas ocorre entre 5 e 6,5 e a película formada pelos mesmos microrganismos não pode ser submergida no líquido.

Existem alguns problemas no processo que podem causar alterações na fabricação do vinagre como microbiológico, microbiológico e químico. Dentre os problemas microbiológicos, pode-se citar principalmente a contaminação de certas espécies de bactérias acéticas, por exemplo, a *Acetobacter xylinum* que é um organismo fortemente capsulado que causa mucosidade obstruindo o equipamento com um sedimento lodoso. Essa viscosidade excessiva é mais fácil de aparecer quando a matéria prima é rica em nutrientes, como os vinhos e sidras (AQUARONE et al., 2001).

Entre as alterações de ordem microbiológica destacam-se a infestação pela *Anguillula aceti*, proveniente de frutos não bem selecionados ou da poeira do ar. A avidez desse microorganismo por oxigênio limita a atividade das bactérias acéticas, aumenta a viscosidade, e diminui as características organolépticas (SCHEIDT et al., 2010).

Ainda de acordo com esses autores, as alterações de ordem química são provocadas principalmente por metais. Por exemplo, o ferro quando em concentrações elevadas causa escurecimento e turvação, além de transmitir um gosto metálico ao vinagre. Também o excesso de cobre gera precipitado causando a turvação no vinagre. Uma forma de evitar ambas as situações é proceder a limpeza cuidadosa dos equipamentos, trabalhar com alta concentração alcoólica, acidez acética inicial adequada (de 2% a 3%), empregar culturas ativas que acetifiquem rapidamente os mostos.

Após o término da fermentação, o vinagre não deve permanecer na vinagreira, pois as bactérias começam a oxidar o ácido acético, enfraquecendo o vinagre. Dessa forma, o produto deve ser acondicionado em recipientes apropriados e mantido sem o contato com o ar, pois sem oxigênio as bactérias são inibidas (SACHS, 2001).

A estabilização do vinagre permite manter as suas características físico-químicas e organolépticas durante o período de comercialização e pode ser feita por meio de métodos físicos ou químicos. A pasteurização é o método físico mais usado e consiste em tratar o vinagre a temperaturas variáveis de 50 a 80 °C de modo a destruir totalmente os microrganismos e desativar as enzimas que são predominantemente a causa mais importante das alterações (oxidação do ácido acético) do vinagre (AQUARONE et al., 2001).

Os métodos químicos utilizam substâncias que ajudam estabilização do produto, como o dióxido de enxofre num teor máximo de 0,02 g por 100 mL de vinagre de vinho, previsto na legislação brasileira (BRASIL, 2012). Posteriormente o vinagre deve ser embalado em garrafas de vidro, PVC ou polietileno, fechadas com tampas plásticas, de forma que não sofra corrosão e alteração das suas propriedades (AQUARONE et al., 2001; XAVIER et al., 2009).

## **Análise sensorial**

Além das análises dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos dos produtos e subprodutos da colmeia, a análise sensorial tem demonstrado ser uma importante ferramenta que pode ser empregada para monitorar o processamento de obtenção dos produtos, com o objetivo de preservar as características sensoriais, identificar adulterações, contribuir para a melhoria do padrão de qualidade e agregar valor aos produtos.

A utilização de pessoas como instrumentos de medida, desde simples consumidores a participar em estudos de mercado até provadores treinados ou peritos, integrando painéis de provadores, é cada vez mais importante no desenvolvimento e controle de qualidade de produtos alimentares e de bebidas (BROCKHOFF, 2011).

A percepção sensorial dos alimentos é complexa, envolve os sentidos visão, olfato, gustação e a percepção química do sabor (NORDIN, 2017). A relação entre um estímulo físico e a resposta fisiológica/sensorial é ainda objeto de investigação no âmbito da psicofísica (LAWLESS, 2013).

Os testes de consumidor são essenciais para o desenvolvimento de produtos, confirmando que os mesmos atendem aos níveis de aceitação (LAWLESS; HEYMANN, 2010). Através dessa técnica é possível obter importantes dados quantitativos e qualitativos para o desenvolvimento do produto, influenciando nas decisões de marketing e mercado.

Neste cenário, o atual trabalho teve como principal objetivo geral a caracterização de hidromel e vinagre de mel a partir de méis de abelhas sociais (Hymenoptera: Apidae) do nordeste brasileiro. Especificamente, foi dividido nos seguintes artigos:

Artigo 1: Qualidade e propriedades bioativas dos méis de abelhas sociais (Hymenopter: Apidae) do Estado do Piauí.

Artigo 2: Efeito da concentração e do tipo de nutriente na produção de hidromel.

Artigo 3: Méis de abelhas com e sem ferrão influenciam o perfil sensorial dos hidroméis?

Artigo 4: Elaboração e caracterização de vinagres de méis de *Apis mellifera* e *Melipona fasciculata* do nordeste brasileiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAB. Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia. Portaria n°. 207 de 26 de novembro de 2014. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de Abelha Social Sem- Ferrão. Diário Oficial do Estado, Bahia, 2014.

ALQARNI, A.S.; OWAYSS, A.A.; MAHMOUD, A.A. Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia. **Journal of Saudi Chemical Society**, v.6, p. 618-625, 2012.

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; STRAMM, K.M.; HORITA, A.; BARTH, O.M.; FREITAS, A.S.; ESTEVINHO, L.M. Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p.1698-1706, 2013.

ALVAREZ-SUAREZ, J.M.; GIAMPIERI, F.; GONZÁLEZ-PARAMÁS, A.M.; DAMIANI, E.; ASTOLFI, P.; MARTINEZ-SANCHEZ, G. Phenolics from monofloral honeys protect human erythrocyte membranes against oxidative damage. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 1508-1516, 2012.

ANAV. Associação Nacional das Indústrias de Vinagres. *Benefícios do vinagre*. Disponível em : <[http://www.anav.com.br/clipping\\_interna.php?id=26](http://www.anav.com.br/clipping_interna.php?id=26)>. Acesso em: 10 out. 2018.

ANJOS, O.; FRAZÃO, D.; CALDEIRA, I. Physicochemical and sensorial characterization of honey spirits. **Foods**, v. 6, n. 58, p. 1-14, 2017.

ANKLAM, E. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. **Food Chemistry**, v. 63, n. 4, p. 549-562, 1998.

- ANUNCIAÇÃO, A.S.; MARTINS, J.A.B.; AMORIM, T.S.; CARVALHO, G.B.M.; MARTINEZ, E.A. Polpa de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) na produção de hidromel. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 7, n. 1, p. 441-445, 2017.
- AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. Biotecnologia na produção de alimentos. 4. ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2001.
- ARAÚJO L. T.; SILVA C. E. F.; ABUD A. K. S. Produção de vinagre de laranja 'Lima' em vinagreira artesanal. **Scientia Plena**, v. 8, n.12, 2012.
- ARRUDA, V.A.S.; PEREIRA, A.A.S.; FREITAS; A.S.; BARTH, O.M.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Dried bee pollen: B complex vitamins, physicochemical and botanical Composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, p. 100-105, 2013.
- BÁRBARA, M.F.S.; MACHADO, C.S.; SODRÉ, G. da S.; SILVA, F. de L.; CARVALHO, C.A.L.de. Caracterizações microbiológica e físico-química de pólenes armazenados por abelhas sem ferrão. **Brazilian Journal of Food and Technology**, v. 21, e2017180, 2018.
- BARTH, O.M. Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. **Scientia Agricola**, v. 61, n. 2, p. 342-350, 2004.
- BENDINI, J. do N.; SOUZA, D.C. Physicochemical characterization of the bee honey originating in the cashew flow. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 565-567, 2008.
- BEZERRA, A.D.M.; PACHECO FILHO, A.J.S.; BOMFIM, I.G.A.; SMAGGHE, G.; FREITAS, B.M. Agricultural area losses and pollinator mismatch due to climate changes endanger passion fruit production in the Neotropics. **Agricultural Systems**, v. 169, p. 49-57, 2019.
- BRASIL. Instrução Normativa n. 11, de 20 de outubro de 2000. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. Ministério da agricultura, Pecuária e abastecimento. Legislação. SisLegis - Sistema de Consulta à legislação, 2018.

BRASIL. Instrução Normativa n 3, de 19 de janeiro de 2001. – ANEXO VI – Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 2001.

BRASIL. Instrução Normativa n. 64, de abril de 2008. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento aprova o regulamento técnico para bebidas fermentados. Ministério da agricultura, Pecuária e abastecimento. Legislação. SisLegis - Sistema de Consulta à legislação, 2018.

BRASIL. Instrução Normativa nº 6, de 03 de abril de 2012. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento estabelece os padrões de identidade e qualidade e a classificação dos fermentados acéticos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 2012.

BROCKHOFF, P. Sensometrics. International Encyclopedia of Statistical Science, 2. ed., Hardcover: Springer, 2011.

BUDAK, N.H.; AYKIN, E.; SEYDIM, A.C.; GREENE, A.K.; GUZEL-SEYDIM, Z.B. Functional properties of vinegar. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 5, p. 757-764, 2014.

BUENO-COSTA, F.M.; ZAMBIAZI, R.C.; BOHMER, B.W.; CHAVES, F.C.; SILVA, W.P.; ZANUSSO, J.T.; DUTRA, I. Antibacterial and antioxidant activity of honeys from the State of Rio Grande do Sul, Brazil. **LWT – Food Science and Technology**, v. 65, p. 333-340, 2016.

CABRAL, B.V. Hidrólise de sacarose por invertase imobilizada em Duolite A-568 por adsorção e ligação cruzada. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012. 115p.

CAC. Codex Alimentarius Commission. *Revised Codex standard for honey*. Codex stan 12, 2. ed., Roma, 2001.

CARDONA, Y.; TORRES, A.; HOFFMANN, W.; LAMPRECHT, I. Differentiation of Honey from *Melipona* species using differential scanning calorimetry. **Food Analytical Methods**, v. 11, n. 4, p. 1056-1067, 2018.

CARPES, S.T.; ALENCAR, S.M.; CABRAL, I.S.R.; OLDONI, T.L.C.; MOURÃO, G.B.; HAMINIUK, C.W.I.; LUZ, C.F.P.; MASSON, M.L. Polyphenols and palynological origin of bee pollen of *Apis mellifera* L. from Brazil. Characterization of polyphenols of bee pollen. **Journal of Food Science**, v. 11, n. 2, p. 150-161, 2013.

CARVALHO, C.A.L.; SODRÉ, G.S.; FONSECA, A.A.O.; ALVES, R.M.O.; SOUZA, B.A.; CLARTON, L. Physicochemical characteristics and sensory profile of honey samples from stingless bees (Apidae: Meliponinae) submitted to a dehumidification process. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 81, p. 143-149, 2009.

CASELLAS, G. B. Effect of low temperature fermentation and nitrogen content on wine yeast metabolism. Tese (Doutorado) - Universitat Rovira i Virgili, 2005.

CEREZO, A. B.; TEFAYE, W.; TORIJA, M. J.; MATEO, E.; GARCÍA-PARRILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M. The phenolic composition of red wine vinegar produced in barrels made from different woods. **Food Chemistry**, v. 109, p. 606-615, 2008.

CHAIKHAN, P.; KEMSAWASD, V.; APICHARTSRANGKOON, A. Effects of conventional and ultrasound treatments on physicochemical properties and antioxidant capacity of floral honeys from Northern Thailand. **Food Bioscience**, v.15, n. 1, p. 19-26, 2016.

CHEN, H.; CHEN, T.; GIUDICI, P.; CHEN, F. Vinegar functions on health: constituents, sources, and formation mechanisms. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.15, n. 6, p. 1124–1138, 2016.

CORAZZA, M.L.; RODRIGUES, D.G.; NOZAKI, J. Preparação e caracterização do vinho de laranja. **Química Nova**, v. 24, n. 4, p. 449-452, 2001.

CORREIA, F.C.S.; FRANCISCO, R.S.; PERUQUETTI, R.C. Palinologia e a interação abelha-flor: revisão de literatura. **Arquivo de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 20, n. 4, p. 247-251, 2017.

- COSTA JUNIOR, M.P. da; KHAN, A.S.; SOUSA, E.P. de; LIMA, P.V.P.S. Integração espacial dos mercados exportadores de mel natural no Brasil. **REAd. Revista Eletrônica de Administração**, v. 23, n. 1, p. 31-53, 2017.
- CRANE, E. O livro do mel. 2a ed. São Paulo: Nobel. 1985. 226p.
- CRANE, E. Beekeeping. In: RESH, V.H.; CARDÉ, R.T. (Org.). Encyclopedia of Insects. Burlington: Elsevier, 2009, p. 66-71.
- DE MARIA, C.A.B.; MOREIRA, R.F.A. Compostos voláteis em méis florais. **Química Nova**, v. 26, p. 90-96, 2003.
- DÓREA, M.C.; SANTOS, F.A.R.; AGUIAR, C.M.L.; MARTINS, C.F. Bee life in the city: an analysis of the pollen provisions of *Centris (Centris) flavifrons* (Centridini) in an urban area. **Sociobiology**, v. 64, p. 166-173, 2017.
- ESCUREDO, O.; MÍGUEZ, M.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M.; SEIJO, M. C. Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. **Food Chemistry**, v. 138, p.851-856, 2013.
- ESTEVINHO, L.; PEREIRA, A.N.; MOREIRA, L.; DIAS, L.G.; PEREIRA, E. Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 3774-3779, 2008.
- ESTEVINHO, L.; FEAS, X.; SEIJAS, J.A.; VAZQUEZ-TATO, M.P. Organic honeyfrom Trás-Os-Montes region (Portugal): chemical, palynologi-cal, microbiological and bioactive compounds characterization. **Food Chemical and Toxicology**, v. 50, p. 258-264, 2012.
- ESTEVINHO, M.L.M.; CHAMBO, E.D.; PEREIRA, A.P.R.; CARVALHO, C.A.L.; TOLEDO, V. de A.A. Characterization of *Lavandula* spp. honey using multivariate techniques. **Plos One**, v. 11, e0162206, 2016.
- FATROCOVÁ-ŠRAMKOVÁ, K.; NÔŽKOVA, J.; KAČÁNIOVÁ, M.; MÁRIÁSSYOVÁ, M.; ROVNÁ, K.; STRIČÍK, M. Antioxidant and antimicrobial properties of monofloral bee pollen. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 48, p. 133-138, 2013.



- FINOLA, M.S.; LASAGNO, M.C.; MARIOLI, J.M. Microbial and chemical characterization of honeys from central Argentina. **Food Chemistry**, v. 100, p. 1649-1653, 2007.
- FIORIO; J. L.; DALPOSSO, P. V. Caracterização e fermentação alcoólica de uva-do-japão (*Hoveniadelphus T.*) visando produção de vinagre. 2011. Monografia (Bacharelado e Licenciatura em Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco.
- FREITAS, A. S.; VANDERBORGHT, B.; BARTH, O.M. Pollen resources used by *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier in an urban forest in Rio de Janeiro city, Brazil. **Palynology**, v. 41, p. 1-8, 2017.
- GÁMBARO, A.; ARES, G.; GIMÉNEZ, A.; PAHOR, S. Preference mapping of color of uruguayan honeys. **Journal of Sensory Studies**, v. 22, p. 507-519, 2007.
- GODOY, B.R.; MUCHAGATA, E.A.; BASSAN, C.F.D. Produção de refrigerante e cachaça de mel a partir da fermentação alcoólica do mel de *Apis mellifera*. **Revista UNIMAR**, v. 22, n. 1-2, 79-83, 2013.
- GOIS, G.C.; LIMA, C.A.B.; SILVA, T.S.; EVANGELISTA-RODRIGUES, A. Composição do mel de *Apis mellifera*: Requisitos de Qualidade. **Acta Veterinária Brasileira**, v. 7, p. 137-147, 2013.
- GOMES, T.; BARRADAS, C.; DIAS, T.; VERDIAL, J.; MORAIS, J.S.; RAMALHOSA, E.; ESTEVINHO, L.M. Optimization of mead production using response surface methodology. **Food and Chemical Toxicology**, v. 59, p. 680-686, 2013.
- GOMES, T.; DIAS, T.; CADAVEZ, V.; VERDIAL, J., MORAIS, J.S.; RAMALHOSA, E., ESTEVINHO, L.M. Influence of Sweetness and Ethanol Content on Mead Acceptability. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v.65, n.2, p.137-142, 2015.
- GRABOWSKI, N. T.; KLEIN, G. Microbiology and foodborne pathogens in honey. **Journal Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 9, p. 1852-1862, 2017.

GUERRA, C.C.; BARNABÉ, D. Vinho. In.: Venturieri Filho, W.G. Tecnologia de bebidas, matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, Legislação, Mercado. São Paulo: Edgard Blücher, 2005, p. 423-451.

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

HIPÓLITO, J.; VIANA, B.F.; GARIBALDI, L.A. The value of pollinator-friendly practices: synergies between natural and anthropogenic assets. **Basic and Applied Ecology**, v. 17, p. 659-667, 2016.

HO, C.W.; LAZIM, A.M.; FARZY, S.; ZAKI, U.K.H.H.; LIM, S.J. Varieties, production, composition and health benefits of vinegars: A review. **Food Chemistry**, v. 221, p.1621-1630, 2017.

IGLESIAS, A.; PASCOAL, A.; CHOUPINA, A.B.; CARVALHO, C.A.; FÉAS, X.; ESTEVINHO, L.M. Development in the fermentation process and quality improvement strategies for mead production. **Molecules**, v.19, p.12577-12590, 2014.

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.

KAMAL, M. A.; KLEIN, P. Determination of sugars in honey by liquid chromatography. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 18, p. 17-21, 2011.

KARABAGIAS, I. K.; BADEKA, A.; KONTAKOS, S.; KARABOURNIOTI, S.; KONTOMINAS, M. G. Characterisation and classification of Greek pine honeys according to their geographical origin based on volatiles, physicochemical parameters and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 146, p. 548–55, 2014.

KOSTIC, A.Z.; BARAĆ, M.B.; STANOJEVIC, S.P.; MILOJKOVIC-OPSENICA, D.M.; TESIC, Z.L.; SIKOPARIJA, B.; RADISIC, P.; PRETOVIC, M.; PESIC, M.B. Physicochemical composition and techno-functional properties of bee pollen collected in Serbia. **LTW – Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 301-309, 2015.

LAWLESS, H.T. Quantitative Sensory Analysis. Psychophysics, Models and Intelligent Design. Chichester: Wiley-Blackwell/John Wiley & Sons, Ltd., 2013.

LAWLESS, H.; HEYMANN, H. Sensory evaluation of food science principles and practices. Chapter 1, 2nd Edition, Ithaca, New York. 2010.

LEONEL, M.; SUMAN, P.A.; GARCIA, E.L. Production of ginger vinegar. **Ciência e Agrotecnologia**, v.39, n.2, p.183-190, 2015

LIMA, R.; CALIMAN, M.J.F.; DÓREA, M. da C.; GARCIA, C.T.; SANTOS, F.A.R.; OLIVEIRA, F.F.; GAROFALO, C.A. Floral resource partitioning between *Centris (Heterocentris) analis* (Fabricius, 1804) and *Centris (Heterocentris) terminata* Smith, 1874 (Hymenoptera, Apidae, Centridini), in an urban fragment of the Atlantic Forest. **Sociobiology**, v. 64, p. 292-300, 2017.

LIRA, A.F.; SOUSA, J.P.L.M.; LORENZON, M.C.A.; VIANNA, C.A.F.J.; CASTRO, R.N. Estudo comparativo do mel de *Apis mellifera* com mel de meliponíneos. **Acta Veterinária Brasileira**, v. 8, n. 3, p. 169-178, 2014.

LOKOSSOU, S.C.; TCHOBO, F.P.; YÉDOMONHAN, H.; SOUMANOU, M.M. Physicochemical characterization and polyphenolic content of beninese honeys. **International Scholarly Research Notices**, p. 1-8, 2017.

LUCAS, C.I.S.; ANDRADE, W.C.; FERREIRA, A.F.; SODRÉ, G. da S.; CARVALHO, C.A.L.; COSTA, M.A.P. de C.; AGUIAR, C.M.L. Pollen types from colonies of *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) established in a coffee plantation. **Grana**, v. 57, p. 1-11, 2017.

LUZ, C.P.F.; BARTH, O.M. Pollen analysis of honey and beebread derived from Brazilian mangroves. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 35, p. 79-85, 2012.

MANCILLA-MARGALLI, N.A.; LOPEZ, M.G. Generation of Maillard compounds from inulin during thermal processing of *Agave tequilana* Weber var. azul. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 806-812, 2002.

MAS, A.; TORIJA, M. J.; GARCÍA-PARRILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M. Acetic acid bacteria and the production and quality of wine vinegar. **The Scientific World Journal**, ID 394671, 2014.

MARTINELI FILHO, A. Tecnologia de vinhos e vinagres de frutas. Piracicaba: Universidade de São Paulo. 1982, 130p.

MATUELLA, M.; TORRES, V.S. Teste de qualidade microbiológica do mel produzido nos arredores do lixão do município de Chapecó – SC. **Higiene alimentar**, v. 14, p. 73-77, 2000.

MENDES-FERREIRA, A.; COSME, F.; BARBOSA, C.; FALCO, V.; INÊS, A.; MENDES-FAIA, A. Optimization of honey-must preparation and alcoholic fermentation by *Sacharomyces cerevisiae* for mead production. **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, p. 193-198, 2010.

MIGDAL, W.; OWCZARCZYK, H.B.; KE DZIA, B.; HOLDERNA-KE DZIA, E.; MADAJCZYK, D. Microbiological decontamination of natural honey by irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 57, n. 3-6, p. 285-288, 2000.

MOREIRA, R. F. A.; MARIA, C. A. B.; PIETROLUONGO, M.; TRUGO, L. C. Chemical changes in the non-volatile fraction of Brazilian honeys during storage under tropical conditions. **Food Chemistry**, v. 104, p. 1236-1241, 2007.

NASCIMENTO, A.S. do; CARVALHO, C.A.L. de; MARTINS, M.L.L. Plants visited by *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) in Recôncavo Baiano, State of Bahia, Brazil. **Revista de Agricultura**, v. 89, p. 97-117, 2014.

NASCIMENTO, A.S. do; MARCHINI, L.C.; CARVALHO, C.A.L. de; ARAUJO, D.F.D.; OLINDA, R.A.; SILVEIRA, T.A. Physical-chemical parameters of honey of stingless bee (Hymenoptera: Apidae). **American Chemical Science Journal**, v. 7, p. 139-149, 2015.

NASCIMENTO, A.S. do; CHAMBO, E.D.; OLIVEIRA, D. de J.; ANDRADE, B.R.; BONSUCESSO, J.S.; CARVALHO, C.A.L. de. Honey from stingless bee as Indicator of contamination with metals. **Sociobiology**, v. 65, p. 727-736, 2018.

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

NORDIN, S. Sensory Perception of Food and Aging. In: RAATS, M.; GROOT, L; VAN ASSELT, D (Org.). **Food for the Aging Population**, London: Woodhead Publishing, 2017, p. 57-82.

ORYAN, A.; ALEMZADEH, E.; MOSHIRI, A. Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing: A narrative review and meta-analysis. **Journal of Tissue Viability**, v. 25, n. 2, p. 1-21, 2016.

OSTERKAMP, I. C; JASPER, A. Análise palinológica em méis da região do vale do taquari, Rio Grande do Sul, Brasil: Ferramenta para a definição de origem botânica. **Destaques Acadêmicos**, v. 5, n. 3, 2013.

PAMPLONA, B.C. Exame dos efeitos químicos inorgânicos encontrados em méis brasileiros de *Apis mellifera* e suas relações físico-biológicas. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989. 131p.

PASCOAL, A.; RODRIGUES, S.; TEIXEIRA, A.; FEAS, X.; ESTEVINHO, L.M. Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and antiinflammatory. **Food and Chemical Toxicology**, v. 63, p. 233-239, 2014.

PEREIRA, A.F. Otimização da produção de vinagre de mel. 2014. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior Agrária de Bragança, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal.

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

PEREIRA, A P.; MENDES-FERREIRA, A.; OLIVEIRA, J.M.; ESTEVINHO, L.M.; MENDES-FAIA, A. High-cell-density fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* for the optimization of mead production. **Food Microbiology**, v. 33, n. 1, p. 114-123, 2013.

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

PETSIU, E. I.; MITROU, P. I.; RAPTIS, S. A.; DIMITRIADIS, G. D. Effect and mechanisms of action of vinegar on glucose metabolism, lipid profile, and body weight. **Nutrition Reviews**, v. 72, n. 10, p. 651-661, 2014.

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

QUEZADA-EUÁN, J.J.G.; NATES-PARRA, G.; MAUES, M.M.; ROUBIK, D.W.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. The economic and cultural values of stingless bees (Hymenoptera: Meliponini) among ethnic groups of tropical America. **Sociobiology**, v. 65, p. 534-557, 2018.

RAMALHOSA, E.; GOMES, T.; PEREIRA, A.P.; DIAS, T.; ESTEVINHO, L.M. Mead production: Tradition versus modernity. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 63, p. 101-118, 2011.

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

SABBAG, J. O.; NICODEMO, D. Variabilidade econômica para a produção de mel em propriedade familiar. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, n. 1, p. 94-101, 2011.

SACHS, L. G. Vinagre. Bandeirantes: Fundação Faculdades "Luiz Menghel", 2001.

SAEKI A. Application of *Gluconobacter oxydans* subsp. *sphaericus* IFO 12467 to vinegar production. **Journal Fermentation and Bioengineering**, v. 75, p. 232-234, 1993.

SALBE, A. D.; JOGNSTON, C. S.; BUYUKBESE, M. A.; TSITOURAS, P. D.; HARMAN, S. M. Vinegar lacks antiglycemic action on enteral carbohydrate absorption in human subjects. **Nutrition Research**, v. 29, p. 846-849, 2009.

SCHEIDT, W.F.; CECHETTI, R.; PAPI, M.A.P.; ZANETTI, T.; BECKER, K.; BOMBARDELLI, C. Processo Fermentativo Rápido de Produção do Vinagre. Toledo, 2010.

SEEMANN, P.; NEIRA, M. Tecnología de la producción apícola. Valdivia: Universidad Austral de Chile; Facultad de Ciencias Agrarias Empaste, 1988. 202p.

SGHAIER, M.B.; SKANDRANI, I.; NARS, N.; FRANCA, M.D.; CHEKIR-GHEDIRA, L.; GHEDIRA, K. Flavonoids and sesquiterpenes from *Teucrium ramosissimum* promote antiproliferation of human cancer cells and enhance antioxidant activity: a structure-activity relationship study. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 32, p.336-348, 2011.

SIEPMANN, F.B.; CANAN, C.; COLLA, E. Processos e substratos para produção de vinagres: uma revisão. **Revista Eletrônica Científica Inovação e Tecnologia**, v. 2, n. 12, p. 12-22, 2015.

SILVA, P.M.; GAUCHE, C.; GONZAGA, L.V.; COSTA, A.C.O.; FETT, R. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food Chemistry**, v. 196, p. 309-323, 2016.

SILVA, S.M.P.C.S.; CARVALHO, C.A.L.; SODRÉ, G.S.; ESTEVINHO, L.M. Production and characterization of mead from the honey of *Melipona scutellaris* stingless bees. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 124, n. 2, p. 194-200, 2018.

SNOWDON, J.A.; CLIVER, D.O. Microorganisms in honey. **International Journal of Food Microbiology**, v. 31, p.1-26, 1996.

SODRÉ, G. da S.; MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. de C. C.; CARVALHO, C. A. L. Tipos polínicos encontrados em amostras de méis de *Apis mellifera* em Picos, Estado do Piauí. **Ciência Rural**, v. 38, n. 3, p. 839-842, 2008.

SOLAYMAN, Md.; ISLAM, Md. A.; PAUL, S.; ALI, Y.; KHALIL, Md. I.; ALAM, N.; GAN, S.H. Physicochemical properties, minerals, trace elements, and heavymetals in honey of different origins: a comprehensive review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 1, p. 219-233, 2016.

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

SUÁREZ-LEPE, J. A.; ÍÑIGO-LEAL, B. (2004). Microbiología enológica: fundamentos de vinificación. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa.

TESFAYE, W.; MORALES, M. L.; GARCÍA-PARRILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M. Wine vinegar: technology, authenticity and quality evaluation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, p. 12-21, 2002.

TORNUK, F.; KARAMAN, S.; OZTURK, I.; TOKER, O. S.; TASTEMUR, B.; SAGDIC, O. Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile. **Industrial Crops and Products**, v. 46, p. 124-131, 2013.

UNIÃO BRASILEIRA DE VITIVINICULTURA. Comercialização de vinhos e derivados. Disponível em: <http://www.uvibra.com.br>. Acesso em: jan. 2018.

VALE, M.A.D. do; GOMES, F.A.; SANTOS, B.R.C. dos; FERREIRA, J.B. Honey quality of *Melipona* sp. bees in Acre, Brazil. **Acta Agronómica**, v. 67, n. 2, p. 201-207, 2018.

VENTURIERI, G.C.; ALVES, D.A.; VILLAS-BÔAS, J.K.; CARVALHO, C.A.L. de; MENEZES, C.; VOLLET-NETO, A.; CONTRERA, F.A.L.; CORTOPASSI-LAURINO, M.; NOGUEIRA-NETO, P.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Meliponicultura no Brasil: situação atual e perspectivas futuras para o uso na polinização agrícola. In: Imperatriz-Fonseca, V.L.; Canhos, D.A.L.; Alves, D. de A.;



Saraiva, A.M. (Org.). Polinizadores no Brasil: contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais. 1ed. São Paulo-SP: EDUSP, 2012, p. 349-360.

VIDRIH, R.; HRIBAR, J. Studies on the sensory properties of mead and the formation of aroma compounds related to the type of honey. **Acta Alimentaria**, v. 36, n. 2, p.151-167, 2007.

XAVIER, L; REMÉDIOS, M.; MARIA, R.; FONTES, S.; KARYNE, S. *Produção do vinagre de maçã*. 2009. Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2009.

YÜCEL, Y.; SULTANOGLU, P. Characterization of honeys from Hatay region by their physicochemical properties combined with chemometrics. **Food Bioscience**, v. 1, p. 16-25, 2013.

WESTON, R.J. The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. **Food Chemistry**, n. 64, p. 235-301, 2000.

WHITE JUNIOR, J.W. Honey. **Advances in Food Research**, v. 22, p. 287-347, 1978.

WINTERSTEEN, C.L.; ANDRADE, L.M.; ENGESETH, N.J. Effect of heat treatment and oxidant capacity and flavor volatiles of mead. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 70, n.2, p. 119-126, 2005.

## ARTIGO 1

### QUALIDADE E PROPRIEDADES BIOATIVAS DOS MÉIS DE ABELHAS SOCIAIS (HYMENOPTERA: APIDAE) DO ESTADO DO PIAUÍ

---

Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico *Journal of Apicultural Research*.

## QUALIDADE E PROPRIEDADES BIOATIVAS DOS MÉIS DE ABELHAS SOCIAIS (HYMENOPTERA: APIDAE) DO ESTADO DO PIAUÍ

**Resumo:** O mel é um produto natural apreciado mundialmente, composto principalmente de açúcares e outros constituintes, além de ser rico em flavonoides e ácidos fenólicos que exibem uma ampla gama de efeitos e agem como antioxidantes naturais. Em função do grande potencial para a produção de mel no Estado do Piauí, Brasil, este trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade e determinar as propriedades bioativas dos méis de abelhas sociais (Hymenoptera: Apidae), contribuindo para a construção de padrões desses produtos. As coletas foram realizadas nos anos de 2014 e 2015, em quatro municípios do Piauí (São João do Piauí, Castelo do Piauí, Murici dos Portelas e Parnaíba). Foram realizadas análises físico-químicas (açúcares redutores, sacarose aparente, atividade diastásica, umidade, cinzas, condutividade elétrica, atividade de água, hidroximetilfurfural, acidez, pH e cor); de composição de açúcares por HPLC; avaliação dos compostos bioativos (compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante); análises microbiológicas (coliformes totais 35 °C, coliformes termotolerantes 45 °C, contagem de bolores e leveduras, bactérias aeróbias mesófilas e psicrotróficas, *Bacillus cereus*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva e esporos de *Clostridium* sulfito redutores); e melissopalínológicas dos méis. Os diferentes méis poliflorais analisados apresentaram variabilidade nos seus perfis físico-químicos dentro do estabelecido pela legislação e nas suas propriedades bioativas, possuindo condições higiênico-sanitárias adequadas para o consumo humano.

**Palavras-chave:** *Apis mellifera*, *Melipona fasciculata*, *Melipona subnitida*, microrganismos.

## QUALITY AND BIOACTIVE PROPERTIES OF SOCIAL BEES (HYMENOPTERA: APIDAE) HONEY FROM PIAUÍ STATE

**Abstract:** Honey is a natural product appreciated worldwide, composed mainly of sugars and other constituents, being rich in flavonoids and phenolic acids that exhibit a wide range of effects and act as natural antioxidants. Due to the great potential for honey production in PiauÍ State - Brazil, the objective of this work was to evaluate the quality and determine the bioactive properties of the honey bees (Hymenoptera: Apidae), contributing to the construction of standards of these products. The collections were carried out in the years 2014 and 2015, in four municipalities of PiauÍ (São João do PiauÍ, Castelo do PiauÍ, Murici dos Portelas and Parnaíba). Physico-chemical (reducing sugars, apparent sucrose, diastase activity, moisture, ash, electrical conductivity, water activity, hydroxymethylfurfural, acidity, pH and color) and microbiological analyzes (total coliforms 35 °C, thermotolerant 45 °C, yeast and mold counts, mesophilic and psychrotrophic aerobic bacteria, *Bacillus cereus*, *Salmonella* spp., coagulase positive *Staphylococcus* and *Clostridium* sulphite spores) were performed, in addition to palynological and evaluation of the bioactive compounds (total phenolic compounds, total flavonoids and antioxidant activity) of honeys. The different poliflorais honeys analyzed showed variability in their physico-chemical profiles within the established by the legislation and their bioactive properties, showing hygienic-sanitary conditions suitable for human consumption.

**Keywords:** *Apis mellifera*, *Melipona fasciculata*, *Melipona subnitida*, microorganisms.

## INTRODUÇÃO

O mel é um alimento natural produzido pelas abelhas melíferas a partir do néctar das flores, das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas, que as abelhas coletam, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam maturar nos favos da colmeia (Belay et al., 2013). É composto principalmente por açúcares e outros constituintes, tais como enzimas, aminoácidos, ácidos orgânicos, carotenóides, vitaminas, minerais e substâncias aromáticas, além de ser rico em flavonoides e ácidos fenólicos (Alqarni Owayss & Mahmoud, 2012; Oryan, Alemzadeh & Moshiri, 2016). Essas características tornam o mel um dos alimentos mais completos, com propriedades benéficas ao organismo humano, incluindo ação terapêutica (Canadanovic-Brunnet et al., 2014), antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória (Liu et al., 2013), anticancerígena, antiviral e antifúngica (El-Haskoury et al., 2018).

A maior parte da atividade apícola do mundo é realizada com a espécie *Apis mellifera* (Crane, 2009), porém a criação de abelhas sem ferrão (meliponicultura) vem crescendo nas regiões tropicais, especialmente no Brasil (Venturieri et al., 2012; Lira et al., 2014). O mel de espécies do gênero *Melipona* é considerado um produto valioso e possui uma longa história como parte substancial da dieta da população do nordeste brasileiro (Silva et al., 2013).

Com flora diversificada em diferentes biomas, o Brasil tem potencial apícola relevante, o que permite produzir mel o ano todo (Barbosa et al., 2014). A região do semiárido nordestino tem recebido destaque, especialmente o estado do Piauí, devido a existência de flora nativa rica em plantas melíferas (Bendini & Souza, 2008; Sodré et al., 2011), mas ainda com poucos estudos que visem a caracterização dos diferentes tipos de méis produzidos na região. Neste sentido, o trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade e determinar as propriedades bioativas dos méis de abelhas sociais (Hymenoptera: Apidae) do estado do Piauí, Brasil, contribuindo para a construção de padrões desses produtos.

## MATERIAL E MÉTODOS

As quatro amostras compostas de méis (*blend*) foram coletadas nos anos de 2014 e 2015, todas no mês de julho, em quatro municípios do estado do Piauí, sendo que em São João do Piauí e Castelo do Piauí foram coletados os méis de *Apis mellifera* (A1 e A2), Murici dos Portelas, o mel de *Melipona fasciculata* (M1) e Parnaíba, o mel de *Melipona subnitida* (M2).

As colheitas dos méis de *Melipona* foram realizados diretamente dos potes fechados, em local limpo com o uso de seringas descartáveis. A higiene é fundamental para evitar qualquer tipo de contaminação. Devido ao seu elevado teor de umidade e conseqüente risco da ocorrência de fermentações, os méis de meliponíneos foram acondicionados em caixas isotérmicas contendo gelo e em seguida encaminhados para análises em laboratório. Todos os produtos foram colocados em potes plásticos estéreis de cinco litros.

Um dos méis de *A. mellifera* (A1) encaminhado para o Laboratório do Núcleo de Estudos dos Insetos (Grupo Insecta) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) estava armazenado desde de 2014 na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Meio Norte).

### Análises físico-químicas

Para caracterizar o mel foram determinados os açúcares redutores, sacarose aparente e atividade diastásica de acordo com o método do Codex Alimentarius Commission (2001); a atividade de água, a acidez, o hidroximetilfurfural e o pH foram avaliados conforme a Association of Official Analytical Chemists (1997). Para determinar a condutividade elétrica e o teor de cinzas seguiu-se o procedimento de Sancho et al. (1991). O teor de água (umidade) foi determinado pelo método refratométrico proposto pela International Honey Commission (2009) e a cor de acordo com o referido por Vidal e Fregosi (1984), utilizando a escala de Pfund.

## **Composição dos açúcares**

Para quantificação dos açúcares, utilizou-se o método de Vilela et al. (2016) com modificações. Pesou-se 0,2 g de mel e dissolveu-se em 100 mL de água deionizada. Em seguida, retirou-se uma alíquota de 1 mL e diluiu-se em 9 mL de água deionizada perfazendo um total de 10 mL. O conteúdo foi analisado por cromatografia de troca de ânions de alto desempenho com detecção amperométrica pulsada (HPAEC-PAD, ICS-3000, Dionex).

## **Determinação dos Compostos Fenólicos e Flavonoides Totais**

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu (Ferreira et al., 2009). A solução padrão do ácido gálico foi utilizada para a obtenção da curva de calibração ( $y = 0,0101x + 0,00377$ ;  $R^2 = 0,9975$ ). Para a análise foram adicionados 0,5 mL da solução de mel (5 g de mel em 25 mL de água deionizada), 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu a 10% e 2 mL de carbonato de sódio a 4% (v/v). Em seguida, a solução permaneceu no escuro por uma hora e posteriormente leu-se a absorvância a 760 nm em espectrofotômetro (FEMTO 700 plus). O branco foi submetido ao mesmo procedimento, exceto no que diz respeito à adição da solução de mel.

O teor de flavonoides totais foi determinado segundo o método descrito por Woisky e Salatino (1998) modificado. Utilizou-se a solução padrão da quercentina para a obtenção da curva de calibração ( $y = 0,0036x + 0,0021$ ;  $R^2 = 0,9998$ ). Para análise, uma alíquota de 2,0 mL de solução de mel foi utilizada, adicionando-se 3,0 mL de cloreto de alumínio a 10%, deixado em repouso por 30 minutos e as leituras foram realizadas em espectrofotômetro (FEMTO 700 plus) a 420 nm. Os tubos em branco foram submetidos ao mesmo procedimento, exceto no que diz respeito à adição da solução de mel.

## **Atividade Antioxidante**

A capacidade antioxidante das diferentes amostras de méis foi determinada por dois métodos: 2,2-Difenil, 1-Picrilhidrazil (DPPH), baseado na medição da diminuição da absorção do radical DPPH após a exposição ao radical

sequestrador (Herald, Gadgil & Tiley, 2012); e, poder antioxidante de redução do íon férrico (FRAP), baseado na redução do ferro na forma  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$  na presença de antioxidantes (Benzie & Strain, 1996; 1999).

### **Método do DPPH• (2,2-Difenil, 1-Picrilhidrazil) em microplacas**

A metodologia de antioxidante de DPPH em microplaca de 96 poços foi descrita por Herald et al. (2012) com algumas modificações. Um total de 20  $\mu$ L das amostras diluídas (1 g de mel em 5 mL de água deionizada) foram adicionados a 180  $\mu$ L de solução de DPPH ( $150\mu\text{mol L}^{-1}$ ) em metanol-água (80:20, v/v) e agitadas durante 60 segundos numa microplaca de 96 poços (NUNC). Depois de 40 minutos no escuro à temperatura ambiente, a absorvância foi medida a 515 nm no leitor de microplacas modelo SinergyTM HT (Biotek) e os resultados foram expressos em porcentagem (%) de inibição calculada a partir da equação 1:

$$\text{Equação 1: } \% \text{ de inibição} = \left[ 1 - \frac{(\text{Aamostra} - \text{Abranco})}{\text{Acontrole} - \text{Abranco}} \right] \times 100$$

Sendo:

Aamostra: amostra de mel diluída;

Abranco: metanol e reagente DPPH

Acontrole: metanol

### **Poder antioxidante de redução do íon férrico (FRAP)**

O poder antioxidante de redução do íon férrico (FRAP) (Benzie & Strain, 1996; 1999) foi feito utilizando-se a solução padrão de Sulfato de Amônio Ferroso (II) mM para a obtenção da curva de calibração ( $y = 0,0011x + 0,0752$ ;  $R^2 = 0,9997$ ) em distintas concentrações (0-1000  $\mu$ L). Em seguida pesou-se 1 g de cada amostra de mel e dissolveu-se em 5 mL de água deionizada, retirando-se 20  $\mu$ L da solução de amostra diluída e adicionando-se 280  $\mu$ L de reagente FRAP diretamente nas microplacas. As misturas foram agitadas, incubadas a 37 °C no escuro durante 30 minutos. A leitura da absorvância foi efetuada num leitor de microplacas modelo SinergyTM HT (Biotek) a 593 nm. O poder antioxidante de redução do ferro foi calculado utilizando-se a equação da reta.



## **Análises microbiológicas**

A quantificação de coliformes totais (35 °C), coliformes termotolerantes (45 °C), bolores e leveduras, bactérias aeróbias mesófilas e psicrotróficas, *Bacillus* spp., assim como a verificação de presença ou ausência de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positivo foram realizadas seguindo o método da American Public Health Association (APHA) descrito nas normas internacionais (Downes & Ito, 2001). A pesquisa de esporos de *Clostridium* sulfito redutores foi feita segundo o método utilizado por Ragazani et al. (2008).

## **Análises Melissopalínológicas**

As amostras foram preparadas conforme a metodologia descrita por Jones e Bryant Junior (2004) e posteriormente submetidas ao processo de acetólise de Erdtman (1960). Os tipos polínicos foram identificados com uso de literatura especializada e consulta ao banco de dados e imagens da Palinoteca do Laboratório do Núcleo de Estudos dos Insetos (Grupo de Pesquisa Insecta), UFRB. A classe de frequência e a determinação geral do número de grãos de pólen foram determinadas segundo Louveaux, Maurizio e Vorwohl (1978) e Moar (1985). A frequência de distribuição dos tipos polínicos (táxons) nas amostras foi calculada conforme Jones e Bryant Junior (2004).

## **Análise estatística**

Todas as análises foram realizadas em triplicata ( $n = 3$ ). Em uma primeira abordagem, realizou-se uma análise descritiva para todos os parâmetros físico-químicos, usando médias e desvios padrão, em função do tipo de mel.

Posteriormente, os dados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e de Levene para verificação da normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, respectivamente. Para as análises nas quais foram observadas diferenças significativas, utilizou-se o teste complementar de Tuckey ao nível de 5% de significância.

Os dados que não apresentaram os pressupostos para one-way ANOVA, foram analisados pelo teste de rank não paramétrico de Kruskal-Wallis para estabelecer uma diferença geral entre os tratamentos.

Para análise de correlação entre cor e compostos bioativos, os dados foram submetidos à análise de correlação de *Pearson*.

Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico R (versão 3.3.0) e adotado 5% ( $p < 0.05$ ) como nível de significância. Essas informações foram comparadas com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira para os méis de abelhas dos gêneros *Apis* e *Melipona*.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Análises físico-químicas

Os resultados obtidos para os parâmetros físico-químicos das amostras de méis de *A. mellifera* (A1 e A2), *M. fasciculata* (M1) e *M. subnitida* (M2) foram comparados com os parâmetros físico-químicos estabelecidos para a qualidade do mel (Brasil, 2000) e os limites propostos para o controle de qualidade do mel de *Melipona* (Vit, Medina & Enriquez, 2004; ADAB, 2014) (Tabela 1).

Os teores médios de umidade encontrados em amostras compostas de méis apresentaram diferenças estatísticas significativas entre os produtos de ambos os tipos de abelhas. O valor obtido neste trabalho para o mel de *A. mellifera* ( $21,55 \pm 0,02\%$ ) excedeu o valor máximo (20%) permitido pela legislação vigente, podendo indicar retirada dos quadros em período chuvoso de coleta ou antes do período de maturação. Os resultados são corroborados com os obtidos por Sodré et al. (2011) para méis de *A. mellifera* da região de Picos no Piauí e por Sousa et al. (2013) para méis de *M. fasciculata* (21,44 e 27,51%, respectivamente) da região do Seridó, no Rio Grande do Norte.

**Tabela 1** - Parâmetros físico-químicos utilizados para controle da qualidade do mel (A = Brasil, 2000), valores limites propostos para controle de qualidade de mel de *Melipona* (B = Vit et al., 2004), *Melipona* no Estado da Bahia, Brasil (C = ADAB, 2014) e o valor médio encontrado para as amostras compostas de *Apis mellifera* (A1 e A2), *Melipona fasciculata* (M1) e *M. subnitida* (M2) do estado do Piauí, Brasil.

Parâmetros Físico-Químicos	A	B	C	A1	A2	M1	M2
Umidade (%)	Máx. 20	Máx. 30	20-35	21,55 ± 0,5 b	18,70 ± 0,8 c	25,50 ± 0,6 a	25,00 ± 0,1 a
Açúcares redutores (%) *	Min. 65	Min. 50	Min. 60	80,33 ± 0,0 a	75,71 ± 0,5 b	72,39 ± 0,4 c	70,48 ± 0,3 d
Sacarose aparente (%)	Máx. 6	Máx. 6	Máx. 6	2,25 ± 0,0 a	0,84 ± 0,0 c	1,45 ± 0,0 b	0,45 ± 0,0 d
Cinzas (%)	Máx. 0,6	Máx. 0,5	Máx. 0,6	0,22 ± 0,0 b	0,09 ± 0,0 d	0,17 ± 0,0 c	0,39 ± 0,0 a
Acidez (meq kg <sup>-1</sup> )	Máx. 50	Máx. 85	Máx. 50	78,50 ± 3,5 a	57,50 ± 2,1 b	48,00 ± 0,7 c	48,00 ± 0,7 c
Atividade diastásica (escala de Göthe) *	Min. 8	Máx. 3	Máx. 3	2,32 ± 0,0 b	6,00 ± 0,0 a	0,32 ± 0,0 c	0,13 ± 0,0 c
Hidroximetilfurfural (mg kg <sup>-1</sup> )	Máx. 60	Máx. 40	Máx. 10	8,83 ± 1,1 a	4,79 ± 0,2 b	0,60 ± 0,2 c	0,60 ± 0,0 d
Condutividade Elétrica (µS cm <sup>-1</sup> )	-----	-----	-----	269,00 ± 1,4 b	169,00 ± 1,3 d	202,00 ± 0,0 c	396,00 ± 4,2 a
Atividade de água (Aw) *	-----	-----	-----	0,38 ± 0,0 b	0,23 ± 0,0 d	0,32 ± 0,0 c	0,58 ± 0,0 a
pH	-----	-----	-----	3,47 ± 0,0 d	3,65 ± 0,0 c	3,74 ± 0,1 b	3,98 ± 0,0 a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. \*teste de rank não paramétrico de Kruskal-Wallis. ± desvio padrão.

O teor máximo de água presente no mel é um dos critérios de composição que tem que ser cumprido por todos os méis do comércio mundial. É uma das características mais importantes, pois influencia nas propriedades físicas do mel, como viscosidade, cristalização, cor, sabor, solubilidade e conservação (Escuredo et al., 2013). Dessa forma, a adoção de boas práticas de produção desde o apiário até o processamento são necessárias, como a colheita de mel maduro através de favos operculados e o processamento do produto em locais com baixa umidade relativa do ar.

As diferenças estatísticas encontradas nos açúcares redutores e na sacarose aparente para méis de *A. mellifera*, para o mel de *M. fasciculata* e para o de *M. subnitida*, podem ser atribuídas à origem botânica dos méis, pois os néctares de origens florais diversas diferem na composição química dos hidratos de carbono (Borsato et al., 2014). Os méis de meliponíneos possuem, geralmente, menor teor de açúcares e normalmente a frutose é predominante, sendo um dos fatores responsáveis pela doçura e higroscopicidade desse tipo de mel (Oliveira, Ribeiro & Oliveira, 2012).

Sodré et al. (2011) constataram, em méis de *A. mellifera*, valores que oscilaram entre 74,70 e 82,80% para açúcares redutores e entre 0,20 e 6,70% para sacarose aparente. Sousa et al. (2013) encontraram valores de 52,70% para açúcares redutores e 5,40% para sacarose aparente em méis de *M. fasciculata* e os valores de Silva et al. (2013) foram de 50,50 a 72,77% para açúcares redutores em méis de *M. subnitida* de duas regiões de semi-árido da Paraíba, corroborando com os valores encontrados no presente estudo.

Os valores para cinzas obtiveram diferenças estatísticas significativas entre as amostras e foram similares aos encontrados por Tôrres et al. (2013) ao analisarem méis de *A. mellifera* do município de Apodi, Rio Grande do Norte (entre 0,04 e 0,16%), por Sousa et al. (2013) em méis de *M. fasciculata* (0,10%) e por Silva et al. (2013) em méis de *M. subnitida* (0,03 e 0,20%).

As cinzas expressam o conteúdo de minerais presentes nos alimentos e no caso do mel as diferenças podem estar relacionadas à fonte floral, ao meio ambiente, às condições de produção e processamento (Brasil, 2000).

Em relação ao pH, observa-se que as amostras A1 e A2 apresentaram valores de pH ligeiramente menores que as demais e todas diferiram estatisticamente entre si. Os resultados obtidos estão dentro da amplitude de

valores encontrados por Maia Neto, Oliveira e Santos (2014) para méis de *A. mellifera* (3,45 a 4,05) da microrregião de Pau dos Ferros, RN e por Biluca et al. (2016) para méis de Meliponinae do estado de Santa Catarina (3,33 a 6,56). Embora o valor do pH não seja exigido pela legislação, valores entre 3,2 e 4,5 são considerados aceitáveis para méis, já que a acidez inibe o crescimento de microrganismos (Karabagias et al., 2014).

Quanto à acidez, observou-se diferenças estatísticas significativas entre si nos méis de *A. mellifera*. Para os méis de *Melipona*, não houve diferenças estatísticas significativas entre as amostras. A legislação atual para mel estabelece o valor máximo de 50 meq kg<sup>-1</sup> (Brasil, 2000), enquanto que o valor sugerido para méis de *Melipona* é de 85 meq kg<sup>-1</sup> (Vit et al., 2004) e para *Melipona* no Estado da Bahia é de 50 meq kg<sup>-1</sup> (ADAB, 2014). Os méis de *A. mellifera* do presente estudo encontram-se fora dos limites estabelecidos pela legislação brasileira e pode ser devido ao tempo de armazenamento dos produtos (A1 armazenado por um ano e A2 armazenado por 3 meses) antes da realização das análises físico-químicas, já que a acidez indica frescor.

O valor da acidez corresponde ao equilíbrio dos ácidos orgânicos presentes no mel, que varia de acordo com a composição floral do néctar e as espécies de abelhas, ou podem ser devido à fermentação de açúcares em álcool por microrganismos durante a maturação do mel e maior oxidação para ácidos carboxílicos ou ainda pela quantidade de minerais presentes (Sousa et al., 2016).

Em relação ao armazenamento e aumento de temperatura do mel, dois parâmetros são avaliados: a atividade diastásica e o hidroximetilfurfural (HMF). A atividade diastásica pode ser usada como indicador do aumento da temperatura durante o armazenamento ou quando o produto é submetido a aquecimento acima de 60 °C (CHAIKHAN; KEMSAWASD; APICHARTSRANGKON, 2016).

Os índices de diastase encontrados nas amostras de *A. mellifera* apresentaram quantidades enzimáticas inferiores ao valor estabelecido pela legislação (8 na escala de Göthe) e diferindo estatisticamente entre si. Sodré et al. (2011) obtiveram valores que variaram entre 5,30 e 12,70 na escala de Göthe para méis de *A. mellifera*, sendo que 18 amostras de um total de 35 tiveram valores inferiores aos permitidos na legislação brasileira, assim como o encontrado no presente estudo. Porém, as amostras de *M. fasciculata* e *M. subnitida* encontraram-se dentro dos valores sugeridos para *Melipona* (Vit et al.

2004; ADAB, 2014), não apresentando diferenças estatísticas entre si. Os valores encontrados neste trabalho corroboram com os encontrados por Biluca et al. (2016).

Segundo Aroucha et al. (2008), a atividade diastásica diminui devido à desnaturação parcial ou total das amilases. A ausência da mesma reflete procedimentos e/ou adulterações realizadas no mel, tal como condições de armazenamento inadequadas. A grande variação enzimática em méis de diferentes origens florais sugere que este efeito pode estar relacionado às substâncias provenientes da flora (néctar) e/ou naturais do mel, além dos tipos de abelhas (Yücel & Sultanoglu, 2013).

Os teores de hidroximetilfurfural (HMF) foram baixos assim como os encontrados em pesquisas realizadas por Borsato et al. (2014) em méis de *A. mellifera* ( $\geq 60 \text{ mg kg}^{-1}$ ) do Estado do Paraná e Biluca et al. (2016) em méis de *Meliponinae* ( $0,31 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Todas as amostras apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si.

Normalmente, o HMF é formado pela decomposição de monossacarídeos ou reação de *Maillard*, quando o mel é aquecido ou armazenado por muito tempo. No entanto, o HMF sozinho não pode ser usado para determinar a gravidade do tratamento térmico, porque outros fatores podem influenciar seus níveis, como o perfil de açúcar, presença de ácidos orgânicos, pH, teor de umidade, atividade de água e fonte floral. Portanto, o conteúdo de HMF fornece apenas uma indicação de superaquecimento ou inadequação nas condições de armazenamento (Silva et al., 2016).

Em relação a condutividade elétrica, todas as amostras apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si. Barbosa et al. (2014) encontraram uma média de  $83,54 \mu\text{S cm}^{-1}$  para méis de *A. mellifera* do município de Carnaúbas, RN. Para méis de *Melipona*, Biluca et al. (2016) encontraram valores que variaram de  $150,00$  a  $840,00 \mu\text{S cm}^{-1}$ .

A condutividade elétrica está relacionada ao teor de cinzas e acidez, revelando a presença de íons, ácidos orgânicos e proteínas (Yücel & Sultanoglu, 2013). É considerada critério para a determinação botânica do mel (Karabagias et al., 2014) e atualmente substitui a análise de teor de cinzas, pois tal medição é proporcional ao teor de cinzas na acidez do mel (Alves et al., 2005).

Para atividade de água, houve diferenças estatísticas significativas entre as amostras analisadas. Apenas a amostra de mel de *M. subnitida* apresentou um valor médio superior aos demais (0,58 Aw). Wanderley et al. (2015), ao analisarem atividade de água em amostras de méis de *A. mellifera* da região de Sousa, PB, encontraram valores que variaram entre 0,498 e 0,560 Aw. Souza et al. (2009) obtiveram valores variando de 0,662 a 0,743 Aw em méis de *Melipona scutellaris*, estando acima dos encontrados no presente estudo. Embora não haja limites impostos por padrões, sabe-se que o valor de Aw é muito importante, porque o mel contém leveduras osmófilas que podem causar fermentação, formando álcool etílico e dióxido de carbono, alterando assim a qualidade do mel (Escuredo et al., 2013).

### **Composição dos Açúcares**

Os açúcares no mel são representados por monossacarídeos, glicose e frutose, seguidos de dissacarídeos, sacarose, maltose, turanose, isomaltose, maltulose, trealose, nigerose, kojibiose e trissacarídeos maltotriose e melezitose (Kamal & Klein, 2011).

A composição dos açúcares das quatro amostras de méis está apresentada na Tabela 2. De acordo com a análise estatística, o mel de *A. mellifera* (A1) apresentou uma maior quantidade de glicose (34,30%) que os demais méis analisados. O açúcar predominante das quatro amostras investigadas foi a frutose seguido de glicose, enquanto a trealose e melezitose estavam presentes em pequenas quantidades.

Estudos feitos por Can et al. (2015), em méis de abelhas africanizadas da Turquia, encontraram valores de frutose que variaram de 28,30 a 45,11%, glicose de 17,40 a 25,90%, trealose de 0 a 0,94% e melizitose de 0,43 a 0,94%, sendo que as quantidades de frutose e glicose foram inferiores às encontradas no atual estudo. Biluca et al. (2016) encontraram valores de glicose que variaram de 8,12 a 31,30% e frutose de 31,10 a 46,10% para méis de abelhas sem ferrão do Brasil, sendo estes menores que os encontrados no presente trabalho. A composição do açúcar predominante depende principalmente da origem botânica e geográfica do mel e é afetado pelo clima e tempo de armazenamento (Escuredo et al., 2013).

As quantidades de sacarose de todas as amostras de méis analisadas estavam abaixo do máximo limite convencional de 6% recomendado pela Legislação Brasileira (Brasil, 2000), indicando que os méis foram coletados no período certo de maturação.

**Tabela 2** - Valores médios de açúcares e relação frutose/glicose (F/G) encontrados para as amostras de méis de *Apis mellifera* (A1 e A2), *Melipona fasciculata* (M1) e *M. subnitida* (M2) do estado do Piauí, Brasil.

Açúcares	Espécies de Abelhas			
	A1	A2	M1	M2
<b>Glicose (%)</b>	34,30 ± 0,0 a	30,53 ± 0,0 c	30,50 ± 0,0 c	33,05 ± 0,0 b
<b>Frutose (%) *</b>	61,45 ± 0,0 ab	57,30 ± 0,2 ab	56,60 ± 0,0 a	62,25 ± 0,0 b
<b>Trealose (%) *</b>	0,60 ± 0,0 a	0,45 ± 0,0 a	0,55 ± 0,0 a	0,60 ± 0,0 a
<b>Melezitose (%)</b>	2,50 ± 0,1 a	2,15 ± 0,0 b	2,65 ± 0,0 a	2,60 ± 0,0 a
<b>Frutose/Glicose</b>	1,80	1,90	1,85	1,90

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. \*teste de rank não paramétrico de Kruskal-Wallis.

A relação frutose/glicose determina o estado de cristalização do mel, ou seja, quando a frutose é maior do que a glicose, o mel é fluido (Venir, Spaziani & Maltini, 2010). Segundo Alvarez-Suarez et al. (2010), a relação frutose/glicose tem um impacto no sabor do mel, uma vez que a frutose é mais lenta na degradação que a glicose, tornando o produto mais doce.

De acordo com os valores sumarizados na Tabela 2, todas as amostras examinadas são fluidas (razão maior que 1) corroborando com os resultados de Boussaid et al. (2014) para méis de diferentes origens florais da Tunísia.

### Compostos bioativos do mel

As análises dos méis demonstraram variedade de cores de âmbar claro a âmbar escuro (Tabela 3). As colorações obtidas assemelham-se às encontradas por Sodré et al. (2011) para méis de *A. mellifera* e Sousa et al. (2013) para méis de abelhas sem ferrão.



**Tabela 3** - Cor, compostos fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras compostas de méis *Apis mellifera* (A1 e A2), *Melipona fasciculata* (M1) e *M. subnitida* (M2) do estado do Piauí, Brasil.

Compostos Bioativos	Espécies de Abelhas			
	A1	A2	M1	M2
<b>Cor</b>	Âmbar escuro	Âmbar	Âmbar claro	Âmbar claro
<b>Compostos Fenólicos Totais</b> (mgEAG kg <sup>-1</sup> )	883,24 ± 1,1 a	616,37 ± 1,2 b	357,43 ± 0,7 c	329,66 ± 1,1 c
<b>Flavonóides Totais</b> (mgQE kg <sup>-1</sup> )	131,76 ± 0,9 a	42,81 ± 0,5 b	13,61 ± 0,4 c	16,49 ± 1,5 c
<b>Atividade Antioxidante Efeito Bloqueador DPPH</b> (%)	41,10 ± 1,0 a	25,45 ± 0,0 b	6,10 ± 1,0 d	11,63 ± 0,4 c
<b>Atividade Antioxidante pelo FRAP</b> (µLFe L <sup>-1</sup> )	347,36 ± 1,9 b	377,10 ± 10,3 a	157,10 ± 3,8 d	290,27 ± 4,5 c

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

A cor é o primeiro atributo atraente do mel, sendo importante para a comercialização do produto. É um parâmetro importante na qualidade, aceitação e preferência dos consumidores (Silva, et al., 2016), sendo bastante variável e determinado principalmente pela origem botânica, teor de cinzas, temperatura no qual o mel permanece na colmeia e tempo de armazenamento (Anjos et al., 2015). Quimicamente, a cor do mel é um indicador da presença de polifenóis, terpenos e carotenoides (Wilczynska, 2014).

O teor em compostos fenólicos totais variou expressivamente em relação aos tipos de méis analisados, sendo que os méis de *A. mellifera* apresentaram maiores teores em compostos fenólicos quando comparados aos méis de *M. fasciculata* e *M. subnitida*, respectivamente. Para os flavonoides totais, o maior valor médio encontrado foi de  $131,76 \pm 0,91$  mgQE Kg<sup>-1</sup> na amostra de *A. mellifera* (A1), podendo estar relacionada com a cor do mel, já que essa amostra apresentou coloração âmbar escuro quando comparada às demais. Houve diferenças estatísticas significativas entre as amostras de *Apis*, porém o mesmo não ocorreu entre as amostras de *Melipona* (Tabela 3).

Pesquisa realizada por Bueno-Costa et al. (2016) analisando a atividade antioxidante e antibacteriana em méis *A. mellifera*, encontraram conteúdos de compostos fenólicos que variaram de 611,60 a 1113,70 mgEAG kg<sup>-1</sup> e de 29,8 a 104,6 mgQE Kg<sup>-1</sup> para flavonoides totais. Já Sousa et al. (2016) em méis monoflorais de *M. subnitida*, obtiveram valores médios de fenóis totais variando de 315,40 a 1266,00 mgEAG kg<sup>-1</sup> e flavonoides totais de 24 a 42 mgQE Kg<sup>-1</sup>, estando de acordo com os encontrados no presente estudo.

As porcentagens do efeito bloqueador do DPPH nas amostras analisadas de mel foram inferiores a 50%. As amostras de *A. mellifera* revelaram maior capacidade de resgate de radicais de DPPH quando comparadas aos méis de *M. fasciculata* e *M. subnitida*. O mesmo foi observado para o método do FRAP, onde as amostras de *A. mellifera* apresentaram maiores valores de atividade antioxidante em relação às melíponas. Todas as amostras apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si.

A atividade antioxidante dos méis do presente estudo foi inferior à encontrada nos estudos de Borsato et al. (2014) para méis de *A. mellifera* (de 36,55 a 75,23%) e Biluca et al. (2016) para méis de abelhas sem ferrão que

apresentaram valores médios variando de 61,1 a 624  $\mu\text{LFe(II)} 100 \text{ g}^{-1}$ . Essa variação é devida aos seguintes fatores: origem botânica, cor do mel, região geográfica, tratamento térmico intencional ou não durante o processamento, tempo de armazenamento e método de extração dos compostos fenólicos (Escuredo et al., 2013).

No estudo da matriz de correlação de *Pearson*, verificou-se que os parâmetros apresentaram correlações positivas entre si e estatisticamente significativas ( $P < 0,05$ ) que variaram entre 0,23 a 0,98 (Tabela 4). As correlações elevadas e positivas entre cor, compostos fenólicos (C.F.T.) e flavonoides totais (F.T.) (0,87; 0,93;  $P < 0,05$ ) indicam que a cor do mel está relacionada diretamente com as quantidades desses compostos bioativos.

**Tabela 4** – Matriz de correlação (coeficiente de correlação de Pearson) para avaliações qualitativas da cor, compostos fenólicos totais (C.F.T.), flavonoides totais (F.T) e atividade antioxidante (DPPH e FRAP) de amostras compostas de méis de *A. mellifera*, *M. fasciculata* e *M. subnitida* do estado do Piauí, Brasil.

	<b>Cor</b>	<b>C.F.T.</b>	<b>F.T.</b>	<b>DPPH</b>	<b>FRAP</b>
<b>Cor</b>	---	0,87	0,93	0,80	0,23
<b>C.F.T.</b>			0,96	0,98	0,67
<b>F.T.</b>				0,95	0,55
<b>DPPH</b>					0,77
<b>FRAP</b>					---

Todas as correlações foram significativas  $P < 0,05$ .

### **Análises Microbiológicas**

O mel é um produto consumido *in natura* e devido ao seu reconhecimento como sendo benéfico para a saúde humana, sua ingestão exige cautela, por ser suscetível a contaminantes ambientais e ao crescimento de microrganismos.

Nas amostras analisadas não foram detectadas as presenças de coliformes totais 35 °C e coliformes termotolerantes 45 °C, bactérias aeróbias mesófilas e psicrótróficas, *Salmonella* spp., esporos de *Clostridium* sulfito redutores e *Staphylococcus aureus* (Tabela 5), indicando a adequada manipulação dos méis o que os tornam produtos seguros para o consumo.

O crescimento de *Bacillus* spp. foi menor que 10 UFC g<sup>-1</sup> nas amostras analisadas. Pucciarelli et al. (2014), avaliando 28 amostras de méis de *Tetragonisca angustula*, verificaram que 39% das amostras continham esse microrganismo. Bactérias formadoras de esporos são comuns no ar, no solo e na poeira, tornando-se uma fonte primária de contaminação, sendo assim, comumente encontrados em mel (Snowdon & Cliver, 1996).

A avaliação de bolores e leveduras indicaram que 100% das amostras apresentaram resultados inferiores a 10 UFC g<sup>-1</sup>. Gomes et al. (2017), avaliando méis comercializados no Pará, Brasil, encontraram valores que variaram de 0 a 1,5 x 10<sup>4</sup> UFC g<sup>-1</sup> não corroborando com o atual estudo.

Segundo Fortuna, Nascimento e Franco (2014), esta análise microbiológica é essencial em avaliações higiênico-sanitárias do produto, definindo os padrões na qualidade de processamento, manipulação e validade comercial. A Legislação Nacional (Brasil, 2000) e Internacional (C.A.C., 2001) não dispõem de análises que definam as propriedades microbiológicas do mel, mas advertem boas condições de higiene na manipulação e processamento.

**Tabela 5** - Análises microbiológicas realizadas em amostras compostas de méis de *Apis mellifera* (A1 e A2), *Melipona fasciculata* (M1) e *M. subnitida* (M2) do estado do Piauí, Brasil.

Microrganismos	Espécies de Abelhas			
	A1	A2	M1	M2
<b>Coliformes totais 35 °C (NMP g<sup>-1</sup>)</b>	<3	<3	<3	<3
<b>Coliformes termotolerantes 45 °C (NMP g<sup>-1</sup>)</b>	<3	<3	<3	<3
<b>Bolores e leveduras (UFC g<sup>-1</sup>)</b>	<10	<10	<10	<10
<b>Bactérias aeróbias mesófilas (UFC g<sup>-1</sup>)</b>	<10	<10	<10	<10
<b>Bactérias aeróbias psicrotroficas (UFC g<sup>-1</sup>)</b>	<10	<10	<10	<10
<b><i>Bacillus</i> spp. (UFC g<sup>-1</sup>)</b>	<10	<10	<10	<10
<b><i>Salmonella</i> spp.</b>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<b>Esporos de <i>Clostridium</i> sulfito redutores</b>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<b><i>Staphylococcus</i> coagulase positivo</b>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

### **Análises Melissopalínológicas**

A análise polínica das quatro amostras de méis coletadas no Estado do Piauí, revelou uma grande diversidade de espécies de plantas visitadas pelas abelhas na área estudada. Foram identificados 38 tipos polínicos distribuídos em 12 famílias botânicas (Tabela 6). Seis tipos polínicos não tiveram afinidade botânica determinada, todos com frequência inferior a 3% e classificados como pólen isolado ocasional. O valor médio de tipos polínicos por amostra de mel foi de 19,25. A maior riqueza foi observada na amostra de *M. subnitida* (26 tipos) e a menor na amostra *A. mellifera* (A2) (15 tipos).

**Tabela 6** - Número de tipos polínicos nas respectivas classes de frequência nas amostras compostas de méis de *Apis mellifera* (A1 e A2), *Melipona fasciculata* (M1) e *M. subnitida* (M2) do estado do Piauí.

Méis	Número de tipos	Pólen Dominante (PD)	Pólen Acessório (PA)	Pólen Isolado Importante (Pii)	Pólen Isolado Ocasional (Pio)
A1	19	---	<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (22,57%), <i>Schinus molle</i> (18,14%), <i>Chamaecrista nictitans</i> (16,14%)	<i>Mitracarpus verticillata</i> (10,14%), <i>Borreria pudica</i> (8,57%), <i>Hyptis suaveolens</i> (7,43%), <i>Cuphea</i> (5,29%), <i>Cuphea</i> (3,14)	11
A2	15	<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (45,29%)	---	<i>Pytirocarpa moniliformis</i> (15,70%), <i>Borreria verticillata</i> (15,47%), <i>Senna</i> (5,83%), <i>Amaranthus</i> (4,71%), <i>Croton</i> 1 (4,04%), <i>Mimosa tenuiflora</i> (4,04%)	8
M1	17	<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (61,90%)	---	<i>Myrcia</i> 1 (13,20%), <i>Pytirocarpa moniliformis</i> (5,20%), <i>Byrsonima</i> (4,40%), <i>Senna</i> (4,30%), <i>Tibouchina</i> (3,50%)	11
M2	26	<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (45,10%)	---	<i>Senna</i> (9,70%), <i>Myrcia</i> 1 (8,00%), <i>Byrsonima</i> (6,00%), <i>Psidium</i> 1 (5,30%), <i>Pytirocarpa moniliformis</i> (4,00%), <i>Chamaecrista</i> (3,80%)	19

A riqueza dos tipos polínicos encontrados nos méis analisados, reflete fatores importantes como a grande diversidade florística encontrada no Piauí, especialmente no semiárido e a forma como a apicultura e a meliponicultura são realizadas no Nordeste, onde a pastagem é composta por flora nativa (Jesus et al., 2014). A indeterminação dos tipos polínicos é um problema comum na análise melissopalínológica, principalmente devido ao estado de preservação dos grãos de pólen. Outros fatores também devem ser considerados como o pouco conhecimento da flora polínica do Brasil, quando confrontado com a diversidade botânica do país; o pequeno número de palinotecas existentes no país e a dificuldade em acessar essas coleções (Jesus et al., 2014).

As famílias com maior abundância de tipos polínicos foram Fabaceae (11 tipos - 65,95% da frequência polínica total), Euphorbiaceae e Rubiaceae (três tipos cada), Amaranthaceae e Myrtaceae (dois tipos cada) corroborando com os estudos realizados por Jesus et al. (2014) em méis de *A. mellifera* do Piauí. As demais 17 famílias foram representadas por um único tipo polínico cada. A categoria de pólen dominante foi encontrada em três das quatro amostras avaliadas e pólen acessório foi observado em uma única amostra. O tipo *Mimosa caesalpiniiifolia* foi classificado como pólen dominante em três amostras e pólen acessório em uma amostra, apresentando a maior frequência relativa total (45,51%). Estudos realizados por Silva et al. (2013) em méis de *M. subnitida* da Paraíba, *M. caesalpiniiifolia* foi o pólen predominante em oito das nove amostras analisadas.

Pode-se observar que apenas o pólen de *M. caesalpiniiifolia* foi fonte alimentar comum para os diferentes tipos de abelhas e para a produção de méis claros e escuros. Embora esse tipo polínico tenha apresentado as maiores frequências em todas as amostras, os méis não são considerados monoflorais, visto que espécies incluídas nesse tipo polínico podem ter seus grãos de pólen super-representados nas amostras (Barth et al., 2005).

## CONCLUSÃO

Os perfís físico-químicos e microbiológicos dos méis são adequados ao consumo humano. Em relação aos açúcares, os teores de frutose e glicose são interferidos pelos tipos de néctar, locais e épocas de colheita. A cor do mel está diretamente relacionada à quantidade de compostos bioativos presentes. Méis



escuras apresentaram maior quantidade de compostos bioativos que os mais claros. Todos os tipos de méis analisados são considerados poliflorais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia - ADAB. Portaria n°. 207 de 26 de novembro de 2014. *Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de Abelha Social Sem- Ferrão*. Diário Oficial do Estado, Bahia, 26 nov. 2014.

Alqarni, A.S., Owayss, A.A., Mahmoud, A.A. (2012). Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia. *Journal of Saudi Chemical Society*, 6, 618-625.

Alvarez-Suarez, J.M., Giampieri, F., González-Paramás, A.M., Damiani, E., Astolfi, P., & Martinez-sanchez, G. (2012). Phenolics from monofloral honeys protect human erythrocyte membranes against oxidative damage. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 1508–1516.

Alves, R.M.O., Carvalho, C.A.L, Souza, B.A., Sodré, G.S. & Marchini, L.C. (2005). Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona mandacaia* Smith (Hymenoptera: Apidae). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(4), 644-650.

Anjos, O., Iglesias, C., Perez, F., Martínez, J., García, A., & Taboada, J. (2015). Neural networks applied to discriminate botanical origin of honeys. *Food Chemistry*, 175, 128-136.

Aroucha, E.M.M., Oliveira, A.J.F., Nunes, G.H.S., Maracajá, P.B., & SANTOS, M.C.A. (2008). Qualidade do mel de abelha produzido pelos incubados da IAGRAM e comercializado no município de Mossoró/RN. *Revista Caatinga*, 21(1), 211-217.

Association of Official Analytical Chemists – A.O.A.C. (1997). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 16th ed. Washington: AOAC.

Barbosa, L.S., Macedo, J.L., Silva, M.R.F., & Machado, A.V. (2014). Estudo bioquímico da qualidade do mel de abelha comercializado no município de Caraúbas – RN. *Revista Verde*, 9(2), 45-51.

Barth, M.O., Maiorino, C., Benatti, A.P.T., & Bastos, D.H.M. (2005). Determinação de parâmetros físico-químicos de da origem botânica de méis indicados monoflorais do sudeste do Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(2), 229-233.

Belay, A., Haki, G.D., Birringer, M., Borck, H., Lee, Y., Kim, K.T., Baye, K., & Melaku, S. (2017). Enzyme activity, amino acid profiles and hydroxymethylfurfural content in Ethiopian monofloral honey. *Journal of Food Science and Technology*, 54(9), 2769-2778.

Bendini, J. do N. & Souza, D.C. (2008). Physicochemical characterization of the bee honey originating in the cashew flow. *Ciência Rural*, 38(2), 565-567.

Benzie, I.F. & Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 239(1), 70-76.

Benzie, I.F. & Strain, J.J. (1999). Ferric reducing antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Oxidants and Antioxidants*, 299, 15–27.

Biluca, F.C., Braghini, F., Gonzaga, L.V., Costa, A.C.O., & Fett, R. (2016). Physicochemical profiles, minerals and bioactive compounds of stingless bee honey (Meliponinae). *Journal of Food Composition and Analysis*, 50, 61-69.

Borsato, M.D., Farago, P.V., Luz, C.F.P., Alencar, S.M., & Almeida, M.M. (2014). Physicochemical quality, botanical origin and antioxidant properties of floral honeys from Campos Gerais region, Brazil. *Interciência*, 39(4), 249-254.

Boussaid, A., Chouaibi, M., Rezig, L., Hellal, R., Donsi, F., Ferrari, G., & Hamdi, S. (2017). Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. *Arabian Journal of Chemistry*, 11(2), 265-274.

Brasil. Instrução Normativa n. 11, de 20 de outubro de 2000. *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade do mel*. In: Ministério da agricultura, Pecuária e abastecimento. Legislação. SisLegis - Sistema de Consulta à legislação, 2016.

Bueno-Costa, F.M., Zambiasi, R.C., Bohmer, B.W., Chaves, F.C., Silva, W.P., Zanusso, J.T., & Dutra, I. (2016). Antibacterial and antioxidant activity of honeys from the State of Rio Grande do Sul, Brazil. *LWT – Food Science and Technology*, 65, 333-340.

Codex Alimentarius Commission – C.A.C. (2001). *Revised Codex standard for honey*. Codex stan 12 – 1981, Roma, 2 ed., 7p.

Can, Z., Yildiz, O., Sahin, H., Turumtay, E.A., Silici, S., & Kolayli, S. (2015). An investigation of Turkish honeys: Their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food Chemistry*, 180, 133-141.

Canadanovic-Brunnet, J., Getkovic, G., Saponjac, V.T., Stajcic, S., Vulic, J., Djilas, S., Stajner, D., & Popovic, B. (2014). Evaluation of phenolic content, antioxidant activity and sensory characteristics of Serbian honey-based product. *Ind. Crop Prod.*, 62, 1-7.

Chaikhan, P., Kemsawasd, V., Apichartsrangkoon, A. (2016). Effects of conventional and ultrasound treatments on physicochemical properties and antioxidant capacity of floral honeys from Northern Thailand. *Food Bioscience*, 15(1), 19-26.

- Crane, E. (2009). Beekeeping. In: RESH, V.H.; CARDÉ, R.T. (Org.). *Encyclopedia of Insects*. Burlington: Elsevier, p. 66–71.
- Downes, F.P. & Ito, K. (ed.). (2001). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4 ed. Washington: American Public.
- El-Haskoury, R., Kriaa, W., Lyoussi, B., & Makni, M. (2018). Ceratonia siliqua honeys from Morocco: Physicochemical properties, mineral contents, and antioxidants activities. *Journal of food and drug analysis*, 26, 67-73.
- Erdtman, G. (1960). The acetolysis method: A revised description. *Svensk Botanisk Tidskrift*, 54(4), 561-564.
- Erejuwa, O.O., Sulaiman, S.A., Wahab, M.S., Sirajudeen, K.N.S., Salleh, M.M., & Gurtu, S. (2010). Antioxidant protection of Malaysian tualang honey in pancreas of normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Ann. Endocrinol.*, 71, 291-296.
- Escuredo, O., Miguez, M., Fernandez-Gonzalez, M., & Seijo, M.C. (2013). Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. *Food Chemistry*, 138(2/3), 851-856.
- Ferreira, I.C.F.R., Aires, E., Barreira, J.C.M., & Estevinho, L.M. (2009). Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*, 114, 1438-1443.
- Fortuna, J.L., Nascimento, E.R., & Franco, R.M. (2014) Influência da temperatura de armazenamento sobre a qualidade microbiológica de hambúrgueres crus comercializados em Niterói-RJ. *Scientia Plena*, 10(5), 1-7.
- Gomes, P.W.P., Reis, J.D.E., Silva, D.S.C., Costa, A.P.A., Malato, B.V., & Muribeca, A.J.B. (2017). A aplicação da técnica multivariada (PCA e HCA) em dados microbiológicos e físico-químicos de méis comercializados em Cachoeira do Arari e Salvaterra – PA. *Scientia Plena*, 13(6), 1-13.

Herald, T.J., Gadgil, P., & Tiley, M. (2012). High-throughput micro plate assays for screening flavonoid content and DPPH-scavenging activity in sorghum bran and flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(11), 2326-2331.

International Honey Commission - IHC. (2002). *Swiss Bee Research Centre*. FAM, Liebefeld, CH-3003 Bern, Switzerland.

Jesus, M.C., Borges, R.L.B., Souza, B.A., Brandão H.N., & Santos, F.A.R. (2014). A study of pollen produced in Piauí State, Brazil. *Palinology*, 39, 110-124.

Jones, G.D. & Bryant Junior, V.M. (2004). The use of ETOH for the dilution of honey. *Grana* 43, 174-182.

Kamal, M.A. & Klein, P. (2011). Determination of sugars in honey by liquid chromatography. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18, 17-21.

Karabagias, I.K., Badeka, A., Kontakos, S., Karabournioti, S., & Kontominas, M. G. (2014). Characterisation and classification of Greek pine honeys according to their geographical origin based on volatiles, physicochemical parameters and chemometrics. *Food Chemistry*, 146, 548–55.

Lira, A.F., Sousa, J.P.L.M., Lorenzon, M.C.A., Vianna, C.A.F.J. & Castro, R.N. (2014). Estudo comparativo do mel de *Apis mellifera* com mel de meliponíneos. *Acta Veterinária Brasileira*, 8 (3), 169-178.

Liu, J.R., Ye, Y.L., Lin, T.Y., Wang, Y.W., & Peng, C.C. (2013). Effect of floral sources on the antioxidante, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan. *Food Chemistry*, 139, 938-943.

Louveaux, J., Maurizio, A., & Vorwohl, G. (1978). Methods of melissopalynology. *Bee World*, 59, 139-157.

Maia-Neto, J.A., Oliveira, E.N.A., & Santos, D.C. (2014). Caracterização físico-química de méis de *Apis mellifera* L. provenientes da microrregião de Pau dos Ferros, RN. *Revista Brasileira de Ciencia Veterinária*, 21(4), 268-272.

Moar, N.T. (1985). Pollen analysis of New Zealand honey. *New Zealand Journal of agricultural research*, 28, 39-70.

Oliveira, K.A.M., Ribeiro, L.S. & Oliveira, G.V. (2013). Caracterização microbiológica, físico-química e microscópica de mel de abelhas canudo (*Scaptotrigona depilis*) e jataí (*Tetragonisca angustula*). *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 5(3), 239-248.

Oryan, A., Alemzadeh, E. & Moshiri, A. (2016). Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing: A narrative review and meta-analysis. *Journal of Tissue Viability*, 25(2), 1-21.

Pucciarelli, A.B., Schapovaloff, M.E., Kummritz, S., Seňuk. I.A., Brumovski, L.A., & Dallagnol, A.M. (2014). Microbiological and physicochemical analysis of yateí (*Tetragonisca angustula*) honey for assessing quality standards and commercialization. *Revista Argentina de Microbiología*, 46(4), 325-332.

R Development core team. R: A language and environment for statistical computing. 2012. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <http://www.R-project.org>.

Ragazani, A.V.F., Schoken-Iturrino, R.P., Garcia, G.R., Delfino, T.P.C., Poiatti, M.L., & Berchielli, S.P. (2008). Esporos de *Clostridium botulinum* em mel comercializado no Estado de São Paulo e em outros Estados brasileiros. *Ciência Rural*, 38(2), 396-399.

Sancho, M.T., Muniategui, S., Sanches, P., Huidobro, J.F., & Simal, J. (1991). Mieles Del Pais Vasco, XI: Evaluación de los distintos tipos de cenizas. *Anales de Bromatología*, 43(4), 311-324.

Silva T.M.S., Santos, F.P., Evangelista-Rodrigues, A., Silva, E.M.S., Silva, G.S., Novais, J.S., Santos, F.A.R., & Camara, C.A. (2013). Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 29, 10-18.

Silva, P.M., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Costa, A.C.O., & Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability, and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309-323.

Snowdon, J.A. & Cliver, D.O. (1996). Microorganisms in honey. *International Journal of Food Microbiology*, 31, 1-26.

Sodré, G.S., Marchini, L.C., Moreti, A.C.C.C., Otsuk, I.P., & Carvalho, C.A.L. (2011). Physicochemical characteristics of honey produced by *Apis mellifera* in the Picos region, state of Piauí, Brazil. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40(8), 1837-1843.

Sousa, J.M.B., Aquino, I.S., Magnani, M., Albuquerque, J.R., Santos, G.G., & Souza, E.L. (2013). Aspectos físico-químicos e perfil sensorial de méis de abelha sem ferrão da região do Seridó, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Semina*, 34(4), 1765-1774.

Sousa, J.M.B., Souza, E.L., Marques, G., Benassi, M.T., Gullón, B., Pintado, M.M., & Magnani, M. (2016). Sugar profile, physicochemical and sensory aspects of monofloral honeys produced by different stingless bee species in Brazilian Semi-arid region. *LWT – Food Science and Technology*, 65, 645-651.

Souza, B.A., Marchini, L.C., Oda-Souza, M., Carvalho, C.A.L., & Alves, R.M.O. (2009). Caracterização do mel produzido por espécies de *Melipona* Illiger, 1806 (Apidae: Meliponini) da região Nordeste do Brasil: 1. Características físico-químicas. *Química Nova*, 32(2), 303-308.

Tôrres, W.L., Aroucha, E.M.M., Martins, J.C.P., Oliveira, F.A., & Maracajá, P.B. (2013). Caracterização físico-química e sensorial de amostras de mel de abelhas

africanizadas (*Apis mellifera* L.) produzidas em quatro áreas do município de Apodi/RN. *Revista Verde*, 8(4), 57-66.

Venir, E., Spaziani, M., & Maltini, E. (2010). Crystallization in “Tarassaco” Italian honey studied by DSC. *Food Chemistry*, 122, 410– 415.

Vidal, R. & Fregoso, E.V. (1984). *Mel: características, análises físico-químicas, adulteração e transformação*. Barretos: Instituto Tecnológico Científico “Roberto Rios”. 95p.

Vilela, A., Sobreira, C., Abraão, A.S., Lemos, A.M., & Nunes, F.M. (2016). Texture quality of candied fruits as influenced by osmotic dehydration agents. *Journal of Texture Studies*, 47(3), 239-252.

Vit, P., Medina, M., & Enriquez, E. (2004). Quality Standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, Mexico and Venezuela. *Bee World*, 85(1), 2-5.

Wanderley, R.O.S., Wanderley, P.A., Dantas, M.B., Machado, A.V., & Maracajá, P.B. (2015). Avaliação dos parâmetros de qualidade e estabilidade térmica de méis produzidos na região de Sousa, PB. *Acta Apícola Brasileira*, 3(1), 10-16.

Wilczynska, A. (2014). Effect of filtration on colour, antioxidant activity and total phenolics of honey. *LTW – Food Science and Technology*, 57(2), 767-774.

Woisky, R.G. & Salatino, A. (1998). Analysis of própolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal Apicultural Research*, 37(2), 99-105.

Yücel, Y. & Sultanoglu, P. (2013). Characterization of honeys from Hatay region by their physicochemical properties combined with chemometrics. *Food Bioscience*, 1, 16–25.



## ARTIGO 2

# EFEITO DA CONCENTRAÇÃO E DO TIPO DE NUTRIENTE NA PRODUÇÃO DE HIDROMEL

## EFEITO DA CONCENTRAÇÃO E DO TIPO DE NUTRIENTE NA PRODUÇÃO DE HIDROMEL

**Resumo:** O hidromel é uma bebida fermentada obtida pela transformação dos açúcares do mel em álcool. Tem importância econômica devido às propriedades terapêuticas e nutricionais atribuídas ao mel além de atualmente haver uma demanda crescente por bebidas alcoólicas fermentadas no mercado mundial. Este trabalho teve como objetivo investigar o efeito da suplementação de mostos méis com diferentes concentrações de sais nutrientes e pólen apícola para produção de hidroméis elaborados a partir de méis de abelhas sociais. Utilizou-se méis de *Apis mellifera* e de *Melipona fasciculata* provenientes de dois municípios do Estado do Piauí, Brasil. Foram preparados cinco mostos para cada tipo de mel enriquecidos com nutrientes comerciais e pólen apícola multifloral em diferentes concentrações. As fermentações decorreram à temperatura de 25°C, durante sete dias, com agitação suave, de forma a garantir a uniformidade do produto. Foram monitoradas diariamente por meio da quantificação do peso, açúcares redutores e viabilidade celular. Além disso, periodicamente retiraram-se amostras para quantificação dos produtos da fermentação através de cromatografia em fase líquida de alta performance e por detecção de índice refrativo (HPLC-IR). As avaliações das características dos mostos méis e qualidade dos hidroméis produzidos foram realizadas por meio de análises físico-químicas no início e final das fermentações. Também foram determinados os compostos bioativos dos produtos de cada fermentação. Os resultados foram analisados estatisticamente e demonstraram que a utilização de diferentes tipos e concentrações de nutrientes, além dos diferentes tipos de méis, apresentaram diferenças estatísticas significativas na produção dos hidroméis, exceto nos hidroméis de *A. mellifera* 5 e (HA5) e de *M. fasciculata* 5 (HM5). Apenas os hidroméis de *A. mellifera* 4 (HA4) e de *M. fasciculata* 4 (HM4) não completaram a fermentação, permanecendo com um maior remanescente de açúcares residuais. Todos os hidroméis produzidos encontram-se dentro dos padrões da legislação brasileira e estão adequados ao consumo humano.

**Palavras-chaves:** fermentação alcoólica, produtos de colmeia, mel.

## EFFECT OF CONCENTRATION AND TYPE OF NUTRIENT ON MEAD PRODUCTION

**Abstract:** Mead is a fermented drink obtained by the transformation of honey sugars into alcohol. It has economic importance due to the therapeutic and nutritional properties attributed to honey besides there is currently a growing demand for fermented alcoholic drinks in the world market. The objective of this work was to investigate the effect of the supplementation of honey worts with different concentrations of nutrient salts and bee pollen to produce meads made from social honey bees. *Apis mellifera* and *Melipona fasciculata* honeys from two municipalities of Piauí State, Brazil were used. Five musts were prepared for each type of honey by diluting the honeys in commercial mineral water, then enriched with commercial nutrients and multifloral bee pollen in different concentrations. The fermentations were run at 25°C for seven days with gentle shaking to ensure product uniformity. They were monitored daily by quantifying the following parameters: weight, cell viability and reducing sugars. In addition, samples were periodically quantitated for quantification of fermentation products through high performance liquid chromatography and refractive index detection (HPLC-IR). The evaluations of the characteristics of the honey worts and the quality of the meads produced were carried out through physicochemical analyzes at the beginning and end of the fermentations. The bioactive compounds of the products of each fermentation were also determined. The results were statistically analyzed and showed that the use of different types and concentrations of nutrients, besides the different types of honeys, showed significant statistical differences in the meads production, except in the *A. mellifera* mead 5 (HA5) and in the *M. fasciculata* mead 5 (HM5). Only the *A. mellifera* mead 4 (HA4) and the *M. fasciculata* mead 4 (HM4) did not complete the fermentation, remaining with a greater residual of residual sugars. All the meads produced are within the standards of Brazilian legislation and are suitable for human consumption.

**Keywords:** alcoholic fermentation, beehive products, honey.

## INTRODUÇÃO

O hidromel é uma bebida alcoólica obtida pela fermentação de uma solução de mel de abelha, sais nutrientes e água potável (1). Mesmo sendo considerada a bebida fermentada mais antiga, sua produção, em grande parte, continua ocorrendo de forma empírica e recentemente diminuiu, provavelmente devido aos progressos científicos insuficientes na área (2).

Devido ao elevado teor em açúcares, com predominância de frutose, a fermentação do hidromel é um processo demorado, tornando a qualidade do produto variável (2). A preparação dessa bebida envolve uma série de fatores, tais como: qualidade da matéria-prima, agente da fermentação, nutrientes disponíveis, pH do meio, formas de produção, maturação, entre outros (3).

Apesar das altas concentrações de açúcares fermentescíveis, o mel é deficiente em nitrogênio, minerais e fatores de crescimento necessários para estimular as leveduras e, conseqüentemente, a fermentação (4). As leveduras utilizadas na produção de hidromel são normalmente estirpes de *Saccharomyces cerevisiae* que atuam sobre açúcares como a glicose e a frutose, resultando na formação de etanol e dióxido de carbono (5).

De todos os nutrientes assimilados pela *S. cerevisiae* durante a fermentação, os compostos nitrogenados são quantitativamente os mais importantes, depois dos compostos carbonados, pois são essenciais para seu crescimento e metabolismo (6). Na produção de hidromel há pouca evidência disponível sobre a importância da suplementação do mosto mel com nutrientes (5), DAP (3), pólen apícola (7) ou frutas (8) para melhorar a cinética da fermentação e as características finais da bebida. A correção das deficiências nutricionais do mosto em minerais e vitaminas pode reduzir a sensibilidade ao estresse da levedura, melhorando o desempenho da fermentação (9).

Durante este processo, alguns problemas geralmente ocorrem, devido à incapacidade das cepas de levedura para responder e se adaptar às condições de crescimento estressantes desfavoráveis encontradas no mel (10). Conseqüentemente, surgem complicações como a falta de uniformidade do produto, provavelmente devido à variabilidade da composição da matéria-prima e ocorrência de refermentações por leveduras ou bactérias acéticas e lácticas, que

podem aumentar a acidez volátil e promover a produção anormal de ésteres, afetando as qualidades sensoriais do produto (11).

Na solução dos problemas relacionados com a elaboração do hidromel é importante otimizar parâmetros, favorecendo o processo fermentativo. Neste sentido, o trabalho teve como objetivo investigar o efeito da suplementação de mostos méis com diferentes concentrações de sais nutrientes e pólen apícola para produção de hidroméis elaborados a partir de méis de abelhas sociais.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Preparação dos mostos

Na elaboração dos hidromeis foram utilizados méis de *Apis mellifera* e de *Melipona fasciculata* provenientes de dois municípios do Estado do Piauí, Brasil (Castelo do Piauí e Murici dos Portelas, respectivamente).

Foram preparados cinco mostos para cada tipo de mel por meio da diluição dos méis em água mineral comercial, em seguida enriquecidos com nutrientes comerciais (*Enovit*®) e pólen apícola multifloral em diferentes concentrações (Tabela 1) obtendo mostos entre 19 e 22,5 °Brix.

**Tabela 1.** Variáveis independentes utilizadas neste estudo para as concentrações de nutrientes (sal *Enovit*® e pólen apícola).

Variável	Nomenclatura	Concentrações (g L <sup>-1</sup> )
<b>Sal <i>Enovit</i>®</b>	N	0,75 - 1,0 - 1,25
<b>Pólen apícola</b>	P	15 – 25 - 35

No presente estudo, não foi possível a preparação dos mostos sem a adição de pólen, pois apenas os nutrientes comerciais não foram suficientes para fornecer a quantidade adequada de compostos nitrogenados para um bom desempenho das fermentações.

A escolha das diferentes concentrações de nutrientes (sais e pólen) baseou-se no fato das leveduras necessitarem da adição destes, de forma que o processo fermentativo não fosse moroso ou parasse. As concentrações

estabelecidas para estas variáveis levaram em consideração um estudo preliminar que utilizou  $0,75 \text{ g L}^{-1}$  de sais e  $15 \text{ g L}^{-1}$  de pólen. As fermentações decorreram favoravelmente e, dessa forma, resolveu-se aumentar as concentrações para  $1,0$  e  $1,25 \text{ g L}^{-1}$  de *Enovit®* além de  $25$  e  $35 \text{ g L}^{-1}$  de pólen, permitindo avaliar se estes aumentos eram ou não necessários para uma melhor fermentação e conseqüente produção de um melhor hidromel. A Tabela 2 mostra o conjunto de combinações experimentais ensaiadas no presente estudo.

**Tabela 2.** Combinações experimentais testadas na produção de hidromel a partir de mel de *A. mellifera* e *M. fasciculata*.

<b>Fermentações/ Hidroméis</b>	<b>Sal <i>Enovit®</i> (concentração <math>\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Pólen apícola (concentração <math>\text{g L}^{-1}</math>)</b>
F1 - H1	1,00	25,00
F2 – H2	0,75	15,00
F3 – H3	1,25	35,00
F4 – H4	1,25	15,00
F5 – H5	0,75	35,00

Fermentações (F1, F2, F3, F4, F5) e hidroméis (H1, H2, H3, H4, H5).

Após a preparação dos mostos, foi adicionado o ácido tartárico (Sigma-Aldrich®) até se obter valores de pH acima de 3,75 para um melhor desempenho das leveduras durante a conversão de açúcares em etanol. A escolha da diluição de mel utilizada no trabalho teve em conta a obtenção de bebidas com cerca de 10% de etanol. Os mostos foram pasteurizados a  $65 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 20 minutos e depois imediatamente resfriados em balde de gelo ocasionando choque térmico.

A estirpe *Saccharomyces cerevisiae* Q23 Lalvin foi a levedura recomendada para a produção dos hidroméis baseados em estudos realizados por Pereira et al. (12) que indicaram que essa linhagem possui características de fermentação e crescimento adequados. Seguindo as instruções da embalagem, as leveduras foram hidratadas ( $30 \text{ g hL}^{-1}$ ) nos próprios mostos e colocadas em banho maria a  $37,5 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 20 minutos. Após hidratação foram adicionadas aos mostos dando início às fermentações alcoólicas.

## **Condições e monitoramento das fermentações em escala laboratorial**

As etapas seguintes foram baseadas em Pereira et al. (12):

As fermentações decorreram à temperatura de 25 °C, durante sete dias (168 h), em recipientes de vidro com capacidade para 500 mL, contendo 350 mL de mosto mel cada, com agitação de 120 rpm evitando a deposição das leveduras, de forma a garantir a uniformidade do produto. Foram monitoradas diariamente por meio da quantificação dos seguintes parâmetros: peso, viabilidade celular e açúcares redutores. Além disso, periodicamente retiraram-se 2 mL de amostra para quantificação da glicose, frutose, etanol, glicerol e ácido acético, por cromatografia em fase líquida de alta eficiência (CLAE).

O peso foi quantificado através da subtração do peso inicial pelo peso final de três em três horas nas primeiras 48 horas e após isso, a cada 24 horas até o final da fermentação, como uma estimativa de produção de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>).

A viabilidade celular foi determinada por meio da quantificação das unidades formadoras de colônias (UFC's) em meio sólido Yeast Peptone Dextrose (YPD – 20 g L<sup>-1</sup> de glicose, 10 g L<sup>-1</sup> de peptona, 5 g L<sup>-1</sup> de extrato de levedura e 20 g L<sup>-1</sup> de agar). Quando necessário, efetuaram-se diluições e as placas foram incubadas a 25 °C durante 3 a 5 dias (13).

Os açúcares redutores foram quantificados pelo método do DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico) usando a glicose como padrão (14). Os resultados foram expressos em g L<sup>-1</sup>.

### **Quantificação de glicose, frutose, etanol, glicerol e ácido acético por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)**

As amostras retiradas periodicamente foram filtradas com a utilização de uma seringa, com um filtro de nylon de porosidade 0,2 µm (Whatman). Quando necessário, o sobrenadante foi congelado a -18 °C (Templog P Selecta®) para análise posterior.

A glicose, frutose, etanol, glicerol e ácido acético foram analisados num sistema CLAE Varian, equipado com um injetor Rheodyne de 20 µL e uma coluna da Supelco Gel C-610H (300 x 9 µm 7,8 mm) a 35 °C, acoplado a um detector de

índice de refração, RI-4 da Varian. A fase móvel utilizada consistiu em ácido fosfórico a 0,1% (v/v) com um fluxo de 0,5 mL/min. Os dados foram gravados e integrados pelo sistema informático Star Chromatography Workstation da Varian.

Os compostos foram quantificados com base na área dos seus picos e pela comparação com curvas de calibração obtidas com os padrões correspondentes.

### **Caracterização físico-química dos mostos méis e hidroméis**

As avaliações das características dos mostos méis e qualidade dos hidroméis produzidos foram realizadas por meio de análises físico-químicas no início e final das fermentações. Para a caracterização dos mostos foram determinados o pH, °Brix, acidez total (15) e nitrogênio assimilável (16). Os hidroméis foram avaliados quanto ao pH, acidez total, sulforoso total (SO<sub>2</sub>), acidez volátil, teor alcoólico (15) e nitrogênio assimilável (16).

### **Determinação de Compostos Fenólicos e Flavonoides Totais**

A quantificação dos fenóis totais foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu (17). A solução padrão do ácido gálico foi utilizada para a obtenção da curva de calibração ( $y = 0,0101x + 0,00377$ ;  $R^2 = 0,9975$ ) e a leitura da absorbância foi realizada a 760 nm em espectrofotômetro (FEMTO 700 plus).

O teor de flavonoides totais foi determinado utilizando-se a solução padrão da quercentina para a obtenção da curva de calibração ( $y = 0,0036x + 0,0021$ ;  $R^2 = 0,9998$ ) e as leituras foram feitas em espectrofotômetro (FEMTO 700 plus) a 420 nm (18).

### **Atividade Antioxidante**

A atividade antioxidante dos hidroméis foi avaliada pelo uso de dois métodos: efeito bloqueador dos radicais livres (DPPH•) em microplaca de 96 poços com modificações (19). Os resultados foram expressos em porcentagem (%) de inibição calculada a partir da equação 1; e poder antioxidante de redução do íon férrico (FRAP) (20, 21) a partir da curva padrão  $y = 0,0011x + 0,0752$  ( $R^2 =$



0,9997) com os resultados expressos em microlitro de Sulfato Amônio Ferroso por litro ( $\mu\text{LFe L}^{-1}$ ).

$$\text{Equação 1: } \% \text{ de inibição} = \left[ 1 - \frac{(A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}})}{A_{\text{controle}} - A_{\text{branco}}} \right] \times 100$$

Sendo:

$A_{\text{amostra}}$ : amostra de mel diluída;

$A_{\text{branco}}$ : metanol e reagente DPPH

$A_{\text{controle}}$ : metanol

### Análise Estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2 x 5 (tipos de mel x fermentações), com três repetições. Para as análises nas quais foram observadas diferenças significativas, utilizou-se o teste complementar de Tuckey ao nível de 5% de significância, processadas no programa estatístico R (versão 3.3.0) (22).

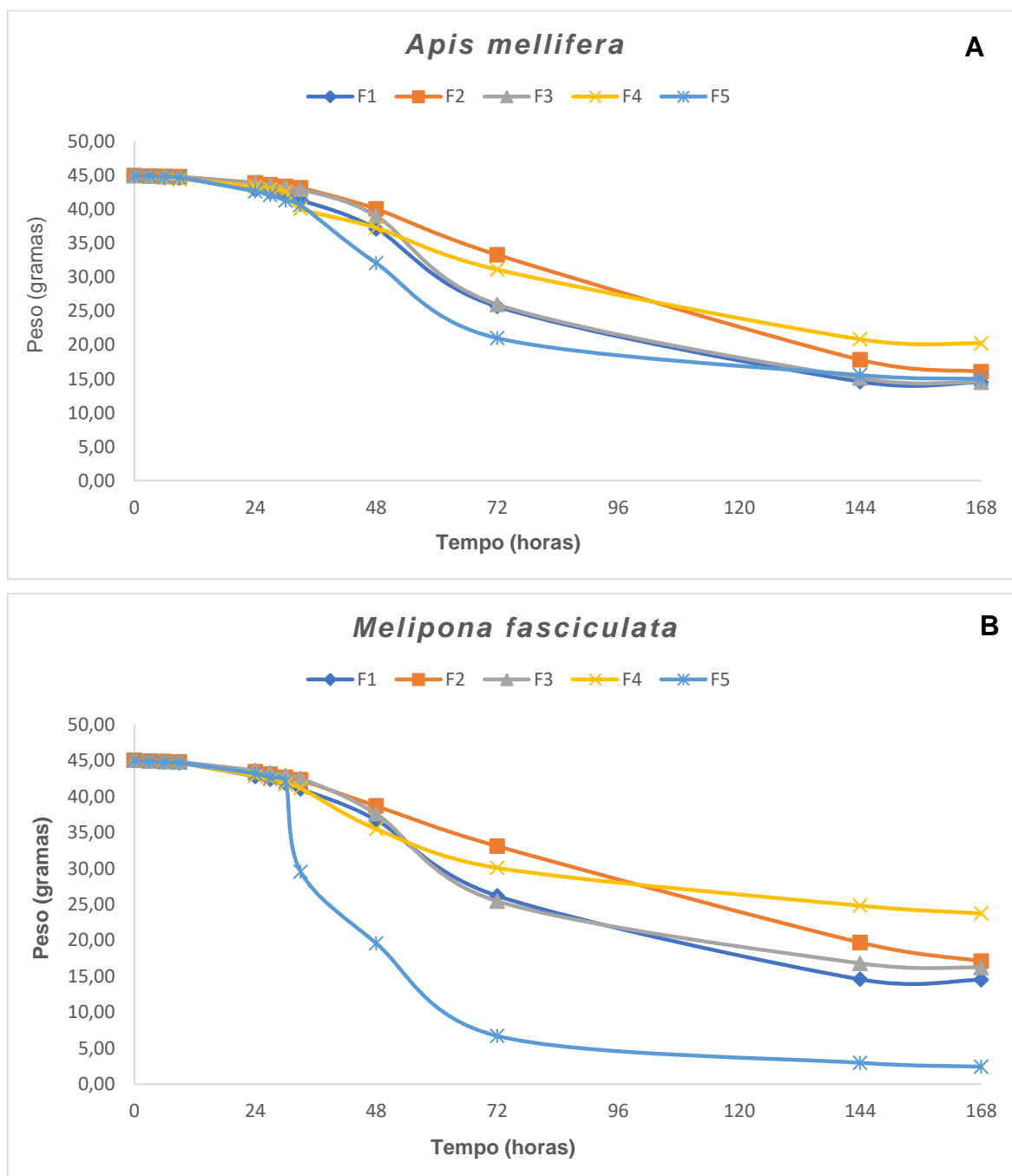
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A evolução das fermentações dos hidroméis ao longo do tempo encontra-se apresentada nas Figuras 1, 2 e 3. Observou-se uma diminuição progressiva do peso até 72 horas em todas as fermentações realizadas, após esse período, a diminuição foi mais lenta até a estabilização. O peso final foi atingido às 168 horas, indicando o fim do processo fermentativo.

Para a fermentação 5 (F5) dos méis de ambos os tipos de abelhas, observou-se uma queda mais acentuada do peso, sendo que para *M. fasciculata* a queda foi mais abrupta, quando comparada com as demais fermentações analisadas. A perda de peso dos produtos é devida à produção de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), indicando a ocorrência do processo fermentativo. Este resultado pode ser justificado por uma maior eficiência da levedura em converter o açúcar do mosto em etanol e dióxido de carbono em condição de anaerobiose (23).

O microrganismo *Saccharomyces* é considerado aeróbio facultativo, ajustando-se metabolicamente tanto em condições de aerobiose como de anaerobiose. Os produtos da metabolização do açúcar irão depender das

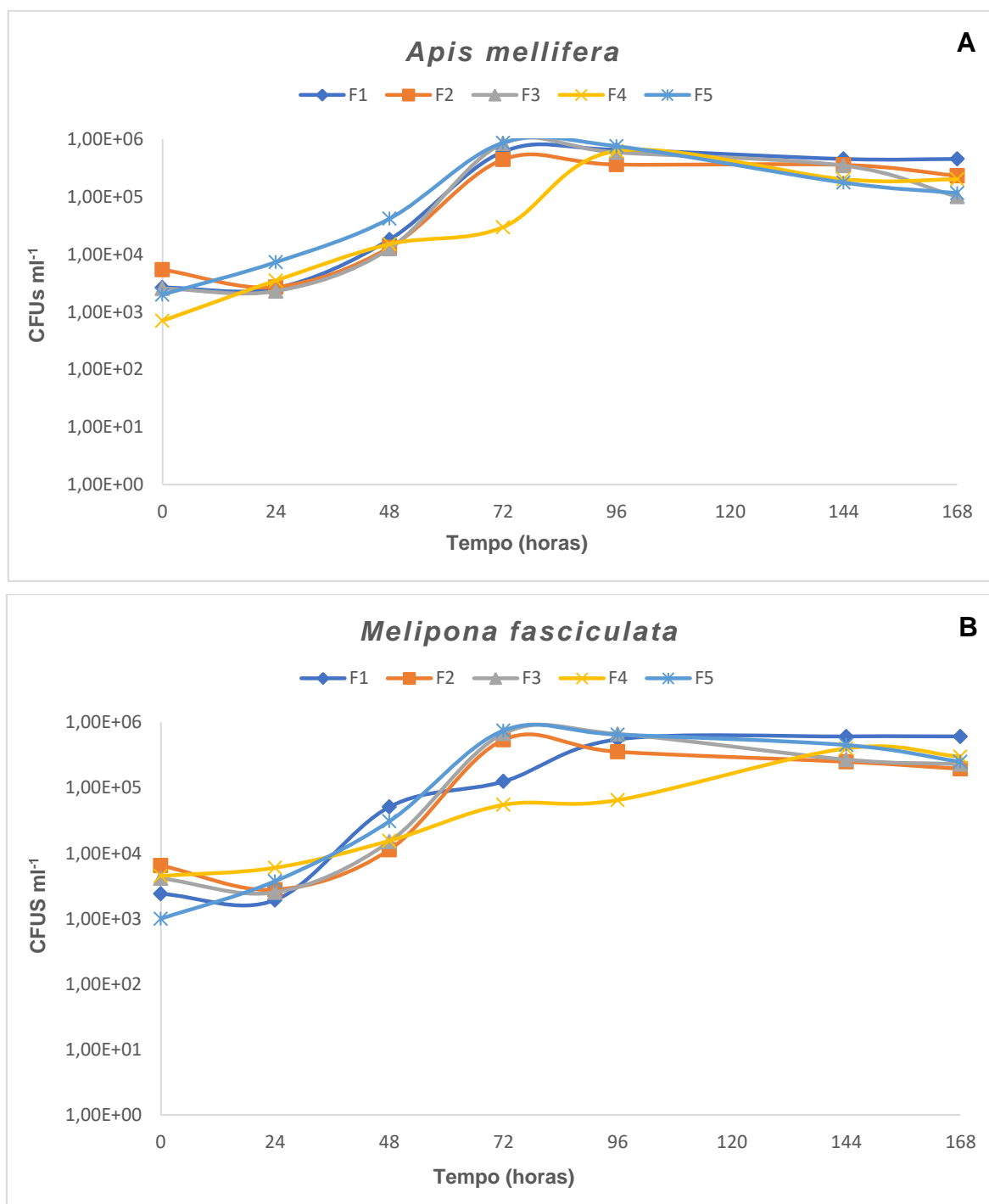
condições ambientais em que as leveduras se encontram, já que são transformados em biomassa. Dessa forma, uma parte do açúcar é transformada em dióxido de carbono e água (aerobiose) e a maior parte é convertida em etanol e dióxido de carbono (anaerobiose) (23).



**Figura 1.** Variações dos pesos em função do tempo para as fermentações alcoólicas (F1, F2, F3, F4 e F5) dos mostos mel de *A. mellifera* (A) e *M. fasciculata* (B).

A fase exponencial para as unidades formadoras de colônias (UFCs) se iniciou entre 24 e 48 horas após inoculação dos mostos com *S. cerevisiae*, sendo

que esse comportamento é esperado, já que as leveduras previamente hidratadas antes da inoculação reduzem a fase de adaptação ao meio (24).



**Figura 2.** Variações das unidades formadoras de colônia (UFCs) de *S. cerevisiae* em função do tempo para as fermentações alcoólicas (F1, F2, F3, F4 e F5) dos mostos mel de *A. mellifera* (A) e *M. fasciculata* (B).

Após a inoculação, a fase estacionária iniciou em 72 horas, provavelmente devido ao início do acúmulo de produtos tóxicos resultantes do seu metabolismo e

o término da fermentação às 168 horas. Corroborando com esses resultados, Silva et al. (24), em hidromel de *Melipona scutellaris*, atingiram a fase exponencial logo após a inoculação do mosto, com fase estacionária às 72 horas. Porém o término da fermentação se deu em 312 horas. Pereira et al. (12) verificaram que a fase estacionária iniciou em 24 horas e a fermentação terminou por volta das 200 horas na produção de hidromel com mel de *A. mellifera*.

Apenas as fermentações 4 (F4) não seguiram o padrão das demais fermentações tendo fase estacionária detectada às 96 horas para *A. mellifera* e 144 horas para *M. fasciculata* após inoculação.

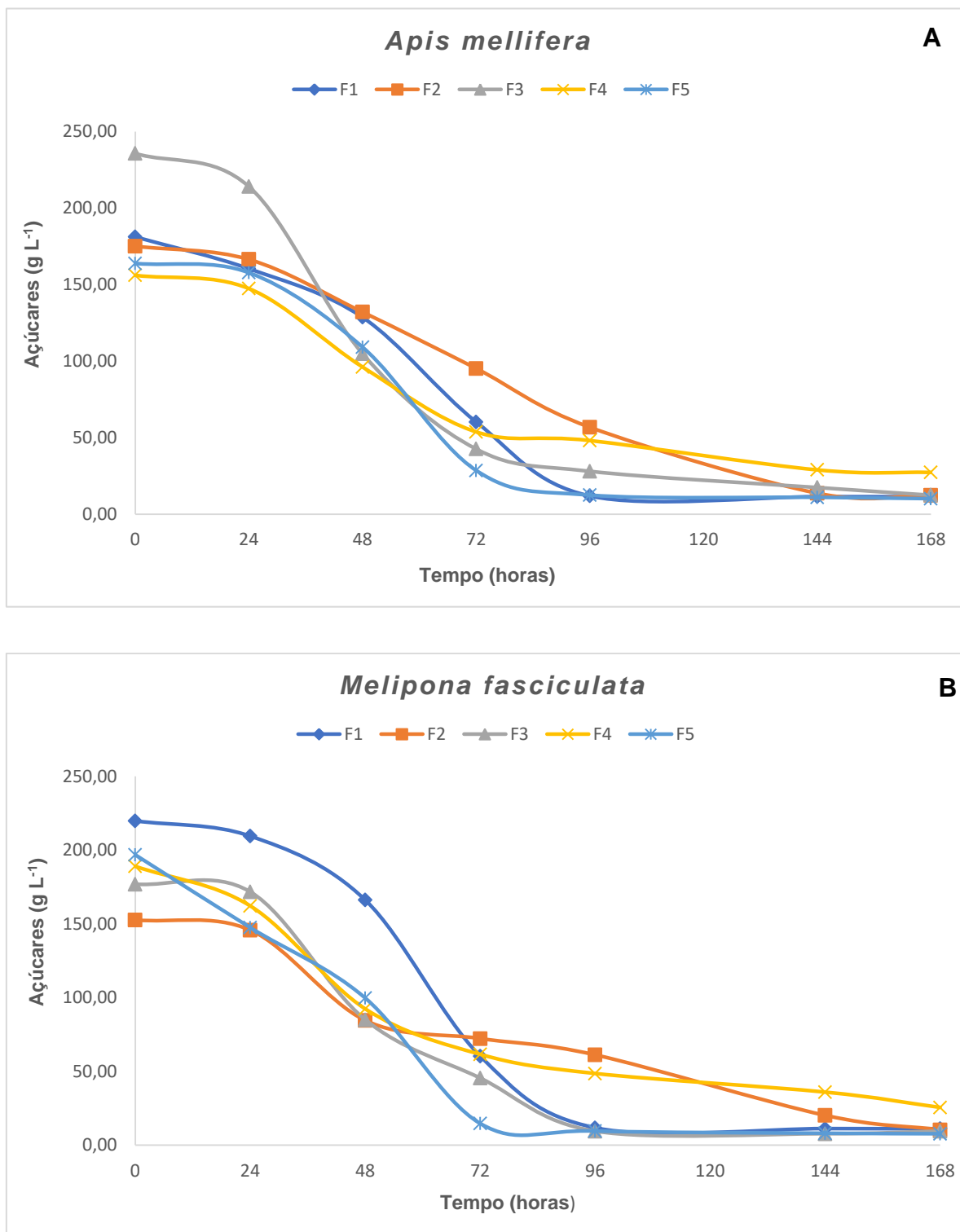
A taxa de consumo de açúcares redutores foi diferente para cada tipo de mel. Porém o consumo foi progressivo até as 72 horas e após esse tempo, o consumo foi mais lento até a estabilização (168 horas). Brunelli (25), ao produzir hidromel com diferentes cepas de *S. cerevisiae* (panificação, vinho branco, vinho tinto, hidromel e cerveja), constatou aumento progressivo do consumo de açúcares redutores entre 192 e 216 horas, com finalização da fermentação às 416 horas. A duração da fermentação foi maior quando comparada ao do presente estudo e dos estudos de Pereira et al. (3), Gomes et al. (5) e Silva et al. (24).

A redução no tempo de fermentação do atual trabalho é benéfica para a produção de hidromel, tanto em pequena quanto em larga escala e está relacionado ao fato dos mostos terem sido enriquecidos com pólen apícola, além dos nutrientes comerciais. Segundo Roldán et al. (7), fermentações que ocorrem com carência ou ausência desses fatores de crescimento para as leveduras, podem ser mais prolongadas ou ocorrer paradas do processo, enquanto que com a adição de nutrientes, todos os méis fermentam rapidamente, sem formação de aromas indesejáveis resultantes de fermentações demoradas. Ainda de acordo com os mesmos autores, o pólen é uma importante fonte de compostos nitrogenados e é utilizado para enriquecer mostos pobres nestes nutrientes, favorecendo uma melhor fermentação.

As fermentações terminaram entre 144 e 168 horas exceto as fermentações 4 (F4) de ambos os tipos de méis que pararam entre 72 e 96 h, apresentando maior valor de açúcares redutores finais (Figura 3).

Apesar da suplementação com nutrientes, para evitar a carência ou ausência dos mesmos no crescimento das leveduras, não foi possível saber motivo da parada da F4, já que F2 e F3 tinham a menor e a maior concentrações

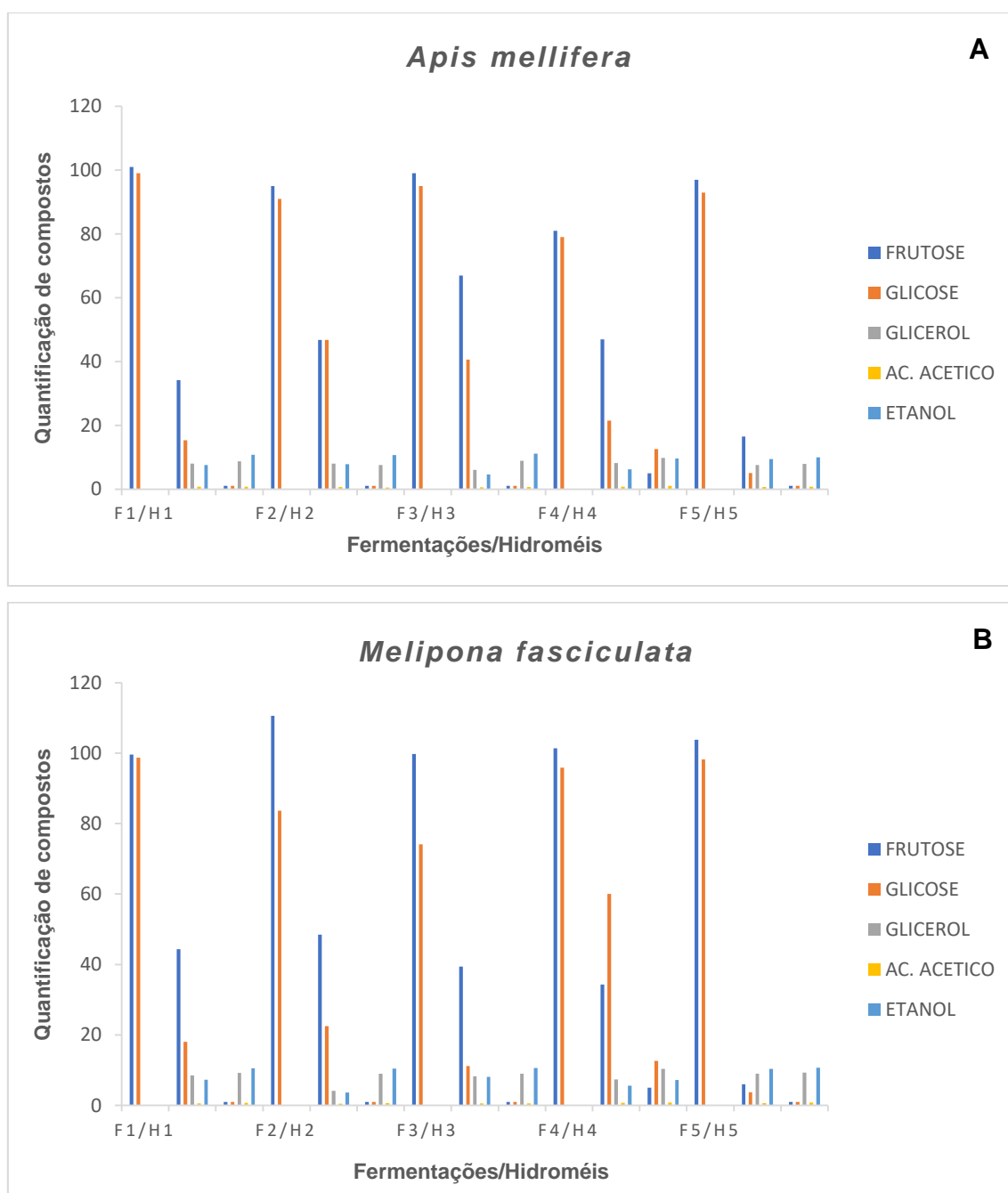
de nutrientes respectivamente e as fermentações ocorreram de forma favorável até o final (Tabela 2). O excesso ou escassez de nutrientes pode causar estresse nas leveduras e dessa forma a fermentação não ocorre de forma adequada (5).



**Figura 3.** Variações dos açúcares redutores ao longo do tempo durante as fermentações alcoólicas (F1, F2, F3, F4 e F5) dos mostos mel de *A. mellifera* (A) e *M. fasciculata* (B).

## Quantificação dos produtos das fermentações por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Os resultados obtidos para os produtos das fermentações quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) estão apresentados na Figura 4.



**Figura 4.** Determinação da glicose, frutose, glicerol, ácido acético e etanol por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) nos mostos mel de *A. mellifera* (A) e *M. fasciculata* (B) durante a fermentação nos tempos inicial (T0), intermediário (T72) e final (T168) em horas.

Os resultados dos teores de frutose e glicose para os hidroméis indicaram que ambos os açúcares dos mostos méis foram convertidos em etanol e/ou metabólitos secundários pelas leveduras durante as fermentações. Apenas os hidroméis HA4 e HM4 não fermentaram completamente resultando num valor elevado de açúcares residuais (entre 25,52 e 27,35 g L<sup>-1</sup>). Este parâmetro não é exigido pela legislação brasileira para hidromel (1), mas segundo a legislação para vinho licoroso seco, o máximo para açúcares residuais é de 20 g L<sup>-1</sup> de glicose (26). A baixa concentração de açúcares residuais sugere que os hidroméis produzidos são pouco susceptíveis a refermentações por leveduras de deterioração, que podem depreciar o produto do ponto de vista das suas características sensoriais (24).

A taxa de consumo de glicose foi maior que a de frutose, como observado na Figura 4, mostrando um consumo preferencial do primeiro açúcar em relação ao segundo. Resultado semelhante foi encontrado por Pereira et al. (18), Gomes et al. (5) e Silva et al. (24), que indicaram que, embora a glicose e a frutose sejam consumidas ao longo do processo de fermentação, as estirpes de *S. cerevisiae* têm preferência pela glicose, que é consumida mais rapidamente, resultando numa possível preponderância de frutose no final da fermentação.

O glicerol aumentou progressivamente ao longo da fermentação, atingindo valores finais de 9,83 g L<sup>-1</sup> para HA4 e 10,39 g L<sup>-1</sup> para HM4. Os valores obtidos para esse parâmetro por Pereira et al. (10) oscilaram entre 9,35 a 10,54 g L<sup>-1</sup>, corroborando com os resultados encontrados para o presente estudo. É um produto importante da fermentação alcoólica, embora não contribua para o aroma do vinho. É um dos compostos mais importantes, pois melhora a qualidade da bebida, influenciando na doçura e suavidade do produto (10).

Em relação ao ácido acético, as concentrações obtidas nos hidroméis variaram de 0,52 a 1,02 g L<sup>-1</sup> para *A. mellifera* e 0,54 a 0,81 g L<sup>-1</sup> para *M. fasciculata*, situando-se dentro do limite legal para a legislação brasileira, o qual deve ser de até 1,20 g L<sup>-1</sup> de ácido acético (1). Os mostos concentrados favorecem a produção de ácido acético pelas próprias leveduras, levando a um aumento da concentração de ácidos graxos não dissociados que retardam a fermentação alcoólica (7).

O teor de etanol variou de 9,61 a 11,08% para os hidroméis de *A. mellifera* e de 7,20 a 10,66% para os de *M. fasciculata*, estando todos dentro da legislação brasileira (1). Apesar do etanol ser um metabolito primário que se espera ser produzido ao longo da fase exponencial, como constatado anteriormente por Pereira et al. (10), a sua produção foi observada ainda ao longo da fase estacionária, no presente estudo, exceto para as fermentações 4.

### **Caracterização físico-química dos mostos méis e hidroméis**

A caracterização físico-química de bebidas fermentadas é fundamental para a determinação de sua identidade e qualidade. Na Tabela 3 estão sumarizados os resultados obtidos para as análises físico-químicas realizadas nos mostos méis e hidroméis de *A. mellifera* e *M. fasciculata* para as cinco concentrações de suplementos utilizadas.

Observou-se diferenças estatísticas significativas entre os hidroméis produzidos a partir do mesmo tipo de mel, nos diversos parâmetros analisados, devido às diferentes concentrações de nutrientes utilizadas para cada fermentação. Todos os produtos se encontraram dentro dos limites exigidos pela legislação brasileira para hidromel (1).

Os valores do pH dos mostos variaram entre 3,77 e 3,83 após ajuste com ácido tartárico, realizado para otimizar o desempenho das fermentações pelas leveduras, que se desenvolvem melhor em meios ácidos. Ressalta-se que, devido à adição de pólen apícola, os valores se tornaram mais básicos.

O pH diminuiu durante as fermentações dos mostos, havendo diferenças estatísticas significativas entre os hidroméis produzidos. A variação do pH nos diferentes tipos de hidroméis pode estar atrelada à composição química de cada matéria-prima além da concentração de nutrientes utilizada. De acordo com estudos de Sroka e Tuszyski (27), durante os primeiros dias de fermentação do mosto para hidromel, os principais ácidos produzidos são o acético e o succínico. Estes são responsáveis pela redução do valor de pH, o qual se mantém praticamente inalterado até o fim da fermentação.

A legislação brasileira não estabelece valores para este parâmetro, porém bebidas fermentadas com valores elevados de pH estão expostas a alterações microbiológicas e físico-químicas prejudiciais a sua estabilidade (28).



A acidez total aumentou ao longo das fermentações atingindo o valor máximo de  $4,88 \text{ g L}^{-1}$  para os hidroméis HA3 e HA4 e de  $4,65 \text{ g L}^{-1}$  para HM4, indicando produção de ácidos pelas reações químicas. Foram encontradas diferenças estatísticas significativas para a acidez total entre os produtos HA2, HA3, HM2 e HM3, porém todos os valores obtidos estão em conformidade com a legislação brasileira (1), cujo teor mínimo estabelecido é de  $3,45 \text{ g L}^{-1}$  e o máximo de  $9,76 \text{ g L}^{-1}$ . O pH e a acidez são propriedades relevantes no vinho, pois influenciam o desempenho fermentativo, as características sensoriais, a estabilidade e a cor do produto (29). Estudos realizados por Roldán et al. (7), verificando a influência da adição de pólen para elaboração de hidromel, mostraram que a acidez total dos mostos enriquecidos com pólen foi mais alta que a do mosto controle (sem pólen).

A acidez volátil aumentou durante as fermentações, principalmente como resultado de síntese de ácido acético, atingindo valores máximos de  $1,08$  e  $1,20 \text{ g L}^{-1}$ , para os hidroméis HA4 e HM4, respectivamente. Houve diferenças estatísticas significativas entre os produtos HA2, HA3, HM2 e HM3, porém todos estão de acordo com a legislação brasileira (1), cujo valor máximo para acidez volátil é de  $1,20 \text{ g L}^{-1}$  de ácido acético. A acidez é um parâmetro importante para avaliar a qualidade das bebidas fermentadas. A acidez volátil relativamente alta indica a formação de ácido acético em demasia, que ocorre quando o processo fermentativo não é conduzido de modo adequado, quando há contaminação por bactérias acidogênicas ou eventual oxidação provocada pela adição/infiltração de ar atmosférico e conseqüentemente o oxigênio (27).

A quantidade de nitrogênio assimilável residual variou de  $28 \text{ mg L}^{-1}$  (HA2 e HM2) a  $140 \text{ mg L}^{-1}$  (HM5), havendo diferenças estatísticas significativas entre os produtos dos méis utilizados. As quantidades residuais desse composto estão diretamente ligadas às concentrações iniciais de nutrientes utilizadas nos mostos méis, exceto para os hidroméis HA4 e HM4, que não fermentaram completamente.

Pereira et al. (12) e Silva et al. (24) também verificaram presença de nitrogênio assimilável residual na produção de hidromel. Esse fato pode estar associado com a metodologia utilizada para determinar o nitrogênio, que quantifica compostos não assimiláveis pelas leveduras *S. cerevisiae*, em particular a prolina. De acordo com Filipe-Ribeiro e Mendes-Faia (30), o método

que utiliza formaldeído tem uma taxa de recuperação de apenas 23% para prolina e este aminoácido representa 50 a 85% do teor de nitrogênio total do mel de *A. mellifera* (31).

Os níveis de dióxido de enxofre total variaram entre 15,69 e 33,28 mg L<sup>-1</sup> para os hidroméis de *A. mellifera* e entre 14,51 e 25,06 mg L<sup>-1</sup> para os de *M. fasciculata*, apresentando diferenças estatísticas significativas nos produtos HA1, HA3, HM1 e HM3. Os valores de SO<sub>2</sub> encontrados garantem uma boa conservação dos hidroméis produzidos. Embora não sejam exigidos para hidromel, esses valores estão de acordo com a legislação brasileira para vinhos, que permite o máximo de 350mg L<sup>-1</sup> de SO<sub>2</sub> total (26).

O dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) tem como função proteger o vinho da ação de bactérias e impedir a ação de enzimas oxidantes. Além dessa proteção enzimática, ele reage fortemente com o oxigênio devido à alta afinidade por esse substrato. Ao impedir a reação do oxigênio com os compostos orgânicos do vinho, protege polifenóis e ésteres de processos de oxidação, preservando a qualidade geral e a longevidade dos vinhos (32). A ausência de SO<sub>2</sub> total em fermentações vinárias é pouco frequente, pois as leveduras produzem esse composto durante a fermentação o qual pode ser superior a 30 mg L<sup>-1</sup> (33).

Em relação à variação do teor alcoólico durante as fermentações, independente da concentração de nutrientes dos mostos, os teores alcoólicos encontraram-se dentro da legislação brasileira, que permite mínimo de 4 e máximo de 14% v/v de etanol (1). Houve diferenças estatísticas significativas nos valores de etanol em HA1, HA4, HM1 e HM4, devido às diferentes concentrações de nutrientes iniciais utilizadas para elaboração dos mostos. Vale ressaltar que os valores mais baixos de etanol foram encontrados em HA4 (10,72%) e HM4 (8,30%). Isso ocorreu devido à parada das fermentações antes do total consumo dos açúcares (Tabela 3).

A concentração final de etanol está correlacionada com a temperatura de fermentação e suplementação do mosto (5). Roldán et al. (7) observaram aumento no teor alcoólico dos hidroméis com adição de pólen em relação ao hidromel controle (sem pólen).

**Tabela 3.** Médias dos parâmetros avaliados para cinco tipos de mostos méis (MO) e hidroméis (H) produzidos a partir de méis de duas espécies de abelhas sociais *A. mellifera* (A) e *M. fasciculata* (M).

Mostos (MO)	pH		ACT g L <sup>-1</sup>		ACR g L <sup>-1</sup>		NA mg L <sup>-1</sup>	
	A	M	A	M	A	M	A	M
MO1	3,78 aA	3,78 aA	1,57 cA	1,40 bB	183,81 bB	219,88 aA	371,00 dA	359,33 cB
MO2	3,77 aA	3,77 aA	1,28 dA	1,05 dB	175,21 cA	152,70 eB	280,00 eA	280,00 dA
MO3	3,77 aA	3,77 aA	2,178 aA	1,95 aB	235,80 aA	176,94 cB	504,00 bA	409,00 bB
MO4	3,81 aA	3,77 aA	1,72 bA	1,12 cB	156,16 eB	189,06 dA	525,00 aA	462,00 aB
MO5	3,83 aA	3,77 aA	1,58 cA	1,13 cB	163,95 dB	196,85 bA	469,00 cA	455,00 aB

Hidroméis (H)	pH		ACT g L <sup>-1</sup>		ACR g L <sup>-1</sup>		NA mg L <sup>-1</sup>		ST mg L <sup>-1</sup>		TA %		AV g L <sup>-1</sup>	
	A	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A	M
H1	2,88 dA	2,90 cA	4,25 cA	4,22 cA	11,55cA	9,30cB	51,33dA	39,33cB	18,77cA	14,51eB	10,79cB	11,23bA	0,79cdA	0,78cdA
H2	3,01 cA	2,95 cB	4,12 cA	4,05dA	12,33bA	10,34bB	28,00eA	28,00dA	15,69dA	15,36dA	11,10bc A	10,40cB	0,66dB	0,90bcA
H3	3,09 bA	3,10 bA	4,88 aA	4,45bB	12,50bA	9,42cB	84,00cA	77,00bB	25,60bA	20,48cB	11,50bA	11,10bB	0,90bcA	0,66dB
H4	2,64 eB	2,82 dA	4,88 aA	4,65aB	27,39aA	25,52aB	98,00bA	35,00cB	33,28aA	25,60aB	10,72cA	8,30dB	1,08aB	1,20aA
H5	3,41 aA	3,21 aB	4,43 bA	4,43bA	10,25dA	7,65dB	126,00aB	140,00aA	25,60bA	23,04bB	12,40aA	12,40aA	1,02abA	1,02bA

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. pH; acidez total (ACT); açúcares redutores (ACR); nitrogênio assimilável (NA); sulfuroso total (ST); teor alcoólico (TA); acidez volátil (AV). \*a estatística foi feita para cada parâmetro.

Diferenças também foram observadas para as concentrações de açúcares redutores residuais em HA3 e HM3. Apenas HA4 e HM4 apresentaram valores mais altos de açúcares redutores (27,39 g L<sup>-1</sup> e 25,52 g L<sup>-1</sup>, respectivamente), indicando a parada da fermentação antes do consumo total dos mesmos. Os demais apresentaram níveis baixos de açúcares residuais, tornando-os secos.

A concentração elevada de açúcares residuais pode permitir a refermentação do hidromel, promovendo aumento da acidez volátil e prejudicando as características sensoriais do produto (5).

De acordo com as análises físico-químicas expostas na Tabela 3, apenas os hidroméis de *A. mellifera* 5 (HA5) e de *M. fasciculata* 5 (HM5) não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si, indicando que, independentemente do tipo de matéria-prima utilizada, foi obtido o mesmo produto. A diferenciação através do grau de aceitação dos mesmos só será possível por meio da análise sensorial.

### **Compostos fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante**

A concentração de compostos bioativos no hidromel varia devido aos seguintes fatores do mel: origem botânica, cor, região geográfica, tratamento térmico durante o processamento, tempo de armazenamento e método de extração dos compostos fenólicos (34). Além de variar de acordo com o mel, varia de acordo com a quantidade de pólen apícola adicionada ao mosto mel para a produção de hidromel.

Na Tabela 4 estão sumarizados os resultados obtidos para as análises de compostos bioativos dos hidroméis produzidos a partir de méis de *A. mellifera* e *M. fasciculata*.

**Tabela 4.** Médias de compostos fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante dos hidroméis de produzidos, a partir de méis de *A. mellifera* (A) e *M. fasciculata* (M).

Hidroméis (H)	Compostos fenólicos totais (mgEAG Kg <sup>-1</sup> )		Flavonóides totais (mgQE Kg mg L <sup>-1</sup> )		Atividade Antioxidante Efeito Bloqueador DPPH (%)		Atividade Antioxidante FRAP (µLFe L <sup>-1</sup> )	
	A	M	A	M	A	M	A	M
H1	386,21 cA	244,34 dB	135,60 cA	74,55 cB	55,90 bA	36,40 aB	168,00 aA	54,37 bB
H2	311,80 dA	208,62 eB	84,63 eA	53,27 dB	68,53 aA	27,71 aB	111,50 bA	49,05 bB
H3	467,56 aA	318,74 bB	181,00 aA	101,43 bB	57,66 bA	41,43 aB	160,00 aA	113,00 aB
H4	381,24 cA	239,38 cB	98,10 dA	57,75 dB	58,07 bA	31,70 aB	148,20 aA	51,20 bB
H5	409,02 bA	344,54 aB	160,00 bA	114,90 aB	58,50 bA	42,64 aB	161,20 aA	105,30 aB

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.  
\*a estatística foi feita para cada parâmetro

Não houve diferenças estatísticas entre os hidroméis produzidos a partir do mesmo tipo de mel para todos os compostos analisados. Os maiores valores encontrados para compostos fenólicos totais foram de 467,56 mgEAG kg<sup>-1</sup> para HA3 e de 344,54 mgEAG kg<sup>-1</sup> para HM5. Apenas HA4 e HM4 não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si.

Para os flavonoides totais obtiveram-se valores que variaram de 84,63 a 181,00 mgQE kg<sup>-1</sup> para os hidroméis de *A. mellifera* e 53,27 a 114,90 mgQE kg<sup>-1</sup> para os de *M. fasciculata*. Não foram encontradas diferenças estatísticas significativas em HA1, HA4, HM1 e HM4.

Os menores valores de compostos fenólicos e flavonoides totais foram encontrados nos hidroméis suplementados com menor quantidade de pólen apícola (HA2, HA4, HM2 e HM4) e os maiores valores nos hidroméis com maior quantidade do mesmo nutriente (HA3, HA5, HM3 e HM5).

A adição de pólen aumentou o índice de polifenóis (fenóis e flavonoides totais) nos hidroméis, além de mudar a coloração dos mesmos em comparação com o hidromel controle (sem adição de pólen), corroborando com os resultados encontrados no presente estudo (7).

As porcentagens do efeito bloqueador do DPPH nas amostras analisadas de hidromel variaram de 55,90 a 68,53% para *A. mellifera* e de 27,71 a 42,64% para *M. fasciculata*. Os hidroméis de *A. mellifera* revelaram maior capacidade de resgate de radicais de DPPH, quando comparados aos hidroméis de *M. fasciculata*. O mesmo foi observado para o método FRAP, onde as amostras de *A. mellifera* apresentaram maior valor de atividade antioxidante que variou de 111,50 a 168,00 µL Fe(II) L<sup>-1</sup> em relação às de *M. fasciculata* (49,05 a 113,45 µLFe(II) L<sup>-1</sup>). Não houve diferença entre HA2 e HM2 para o efeito bloqueador do DPPH e entre HA2, HM2, HA3, HM3, HA5 e HM5 para o método FRAP.

## CONCLUSÃO

A utilização de diferentes combinações de nutrientes, além dos diferentes tipos de méis, proporcionou diferenças na produção dos hidroméis, exceto para os hidroméis de *A. mellifera* 5 (HA5) e de *M. fasciculata* (HM5), sendo estes considerados os melhores devido à maior eficiência da fermentação. Todos os

hidroméis produzidos encontraram-se dentro dos padrões da legislação brasileira e estão adequados ao consumo humano.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL, Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (2008) Secretaria de defesa agropecuária. Portaria nº 64, de 23 de abril de 2008. Regulamentos técnicos para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para as bebidas alcoólicas fermentadas: fermentado de fruta, sidra, hidromel, fermentado de cana, fermentado de fruta licoroso, fermentado de fruta composto e saquê. Brasília.
2. Iglesias, A., Pascoal, A., Choupina, A. B., Carvalho, C. A., Feás, X., and Estevinho, L. M. (2014) Developments in the fermentation process and quality improvement strategies for mead production, *Molecules* 19, 12577–12590.
3. Pereira, A.P.; Mendes-Ferreira, A.; Estevinho, L.M.; Mendes-Faia, A. (2015) Improvement of mead fermentation by honey-must supplementation, *J. Inst. Brew* 121, 405-410.
4. Gupta, R.; Sharma, K.K. (2009) Production technology and quality characteristics of mead and fruit-honey wines: a review, *Natural Products Radiance* 8(4), 345-355.
5. Gomes, T.; Barradas, C.; Dias, T.; Verdial, J.; Morais, J.S.; Ramalhosa, E.; Estevinho, L.M. (2013) Optimization of mead production using response surface methodology, *Food and Chemical Toxicology* 59, 680-686.
6. Casellas, G. B. (2005) Effect of low temperature fermentation and nitrogen content on wine yeast metabolism. Tese (Doutorado). Universitat Rovira i Virgili.
7. Roldán, A., Van Muiswinkel, G. C. J., Lasanta, C., Palacios, V., and Caro, I. (2011) Influence of pollen addition on mead elaboration: Physicochemical and sensory characteristics, *Food Chem.* 126, 574–582.

8. Amorim, T. S., Lopes, S. B., Bispo, J. A. C., Bonafe, C. F. S., Carvalho, G. B. M. and Martinez, E. A. (2018) Influence of acerola pulp concentration on mead production by *Saccharomyces cerevisiae* AWRI 796, LWT Food Science and Technology, 97, 561-569.
9. Gibson, B.R. (2011). 125th Anniversary Review: Improvement of higher gravity brewery fermentation via wort enrichment and supplementation, J. Inst. Brew. 117, 268–284.
10. Pereira, A. P., Dias, T., Andrade, J., Ramalhosa, E., and Estevinho, L. M. (2009) Mead production: Selection and characterization assays of *Saccharomyces cerevisiae* strains, Food Chem. Toxicol. 47, 2057–2063.
11. Ramalhosa, E.; Gomes, T.; Pereira, A.P.; Dias, T.; Estevinho, L.M. (2011) Mead production: Tradition versus modernity, in Advances in Food and Nutrition Research (Jackson, R.S. Ed.) pp. 101–118, Academic Press, Burlington, VA.
12. Pereira, A. P., Mendes-Ferreira, A., Oliveira, J. M., Estevinho, L. M., and Mendes-Faia, A. (2013) High-cell-density fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* for the optimisation of mead production, Food Microbiol. 33, 114-123.
13. Silva, N., Junqueira, V.C.A., Silveira, N.F.A., Taniwaki, M.H., Santos, R.F.S., & Gomes, R.A.R. (2010) Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água, Livraria Varela, São Paulo, Brasil.
14. Miller, G. (1959) Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for determination of reducing sugar, Analytical Chemistry 31, 426-428.
15. Organisation International de la Vigne e du Vin (2006) Recueil dès méthodes internationales d’analyse des vins et des mouts, Paris.
16. Aerny, J. (1996) Composés azotes desmouts et des vins, Ver. Suisse Vitic. Arboric Hortic. 28, 161–165.



17. Ferreira, I. C. F. R., Aires, E., Barreira, J. C. M., and Estevinho, L. M. (2009) Antioxidant activity of Portuguese honey samples: different contributions of the entire honey and phenolic extract, *Food Chem.* 114, 1438–1443.
18. Woisky, R. G.; Salatino, A. (1998) Analysis of própolis: some parameters and procedures for chemical quality control, *Journal Apicultural Research* 37(2), 99-105.
19. Herald, T.J.; Gadgil, P.; Tiley, M. (2012) High-throughput micro plate assays for screening flavonoid content and DPPH-scavenging activity in sorghum bran and flour, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92(11), 2326-2331.
20. Benzie, I.F.; Strain, J.J. (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay, *Anal. Biochem.*, 239(1), 70-76.
21. Benzie, I. F. F.; Strain, J. J. (1999) Ferric reducing antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration, *Oxidants and Antioxidants* 299, 15–27.
22. R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. 2012. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Accessed: 12 March. 2017.
23. Lima, U. de A; Basso, L.C; Amorim, H.V. (2001) *Processos Fermentativos e Enzimáticos - Vol.3: Produção de Etanol*, Edgar Blücher, Brasil.
24. Silva, S.M.P.C.S.; Carvalho, C.A.L.; Sodr e, G.S.; Estevinho, L.M. (2018) Production and characterization of mead from the honey of *Melipona scutellaris* stingless bees. *Journal of the Institute of Brewing* 124(2), 194-200.
25. Brunelli, L.T. (2015) *Caracteriza o físico-química, energética e sensorial de hidromel*. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Agron micas, Universidade Estadual de São Paulo (UNESP/Botucatu).

26. Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária (2004) Portaria no. 55, de 27 de julho de 2004. Normas referentes à complementação dos padrões de identidade e qualidade do vinho e dos derivados da uva e do vinho, Brasília.
27. Sroka, P. A., and Tuszynski, T. (2007) Changes in organic acid contents during mead wort fermentation, *Food Chem.* 104, 1250–1257.
28. Rizzon, L.A.; Mielle, A. (2002) Avaliação da cv. Cabernet Franc para elaboração de vinho tinto, *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 21(2), 249-255.
29. Tôrres, A.R., Lyra, W.S., De Andrade, S.I., Andrade, R.A.N., Silva, E.C., Araújo, M.C.U.; Gaião, E.N. (2011) A digital image-based method for determining of total acidity in red wines using acid–base titration without indicator, *Talanta* 84, 601–606.
30. Filipe-Ribeiro, L.; Mendes-Faia, A. (2007) Validation and comparison of analytical methods used to evaluate the nitrogen status of grape juice, *Food Chemistry* 100, 1272-1277.
31. Anklam, E. (1998) A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey, *Food Chemistry* 63(4), 549-562.
32. Stefenon, C.A. (2009) O papel do Dióxido de Enxofre (SO<sub>2</sub>) nos vinhos, ADEGA, A revista do vinho e outros prazeres. Disponível em: <<http://revistaadega.uol.com.br/Edicoes/31/artigo90832-1.asp>>. Acesso em: dez. 2017.
33. Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., and Dubourdieu, D. (2006) *Handbook of Enology – Vol. 2: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*, Wiley, Chichester.

34. Escuredo, O.; Míguez M.; Fernández-González, M.; Seijo, M. C. (2013) Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area, *Food Chemistry* 138, 851–856.

## ARTIGO 3

### MÉIS DE ABELHAS COM E SEM FERRÃO INFLUENCIAM O PERFIL SENSORIAL DOS HIDROMÉIS?

---

Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico *Journal of Sensory Studies*.

## MÉIS DE ABELHAS COM E SEM FERRÃO INFLUENCIAM O PERFIL SENSORIAL DOS HIDROMÉIS?

**Resumo:** A análise sensorial é uma técnica com a capacidade de respostas transmitidas pelos avaliadores por meio das diversas sensações que se originam de reações fisiológicas e são captados pelos órgãos dos sentidos, gerando a interpretação das propriedades intrínsecas aos produtos. Considerando a progressiva importância econômica do hidromel devido ao aumento da demanda por produtos fermentados, além da influência nas condições de produção sobre a qualidade e a aceitação do produto, este trabalho teve por objetivo verificar se os méis de abelhas com e sem ferrão influenciam o perfil sensorial dos hidroméis produzidos. Na elaboração dos hidroméis foram utilizadas duas amostras de méis de *Apis mellifera*, uma de *Melipona fasciculata* e uma de *Melipona subnitida* provenientes do Estado do Piauí, Brasil. Os mostos foram preparados separadamente através da diluição dos méis em água mineral comercial, enriquecidos com 0,75 g L<sup>-1</sup> de nutrientes comerciais e 15 g L<sup>-1</sup> de pólen apícola multifloral. Após fermentação, os hidroméis foram clarificados, filtrados, caracterizados físico-quimicamente e sensorialmente. Foi usado um teste de aceitação com escala hedônica estruturada em nove pontos, ancorada pelas extremidades de nota 1 (desgostei extremamente) e nota 9 (gostei extremamente) através do recrutamento de 50 provadores não treinados. Dos quatro hidroméis produzidos, aquele com maior grau de aceitação foi o elaborado com mel de *A. mellifera* 1 (HA1). Através da matriz de correlação, verificou-se que as correlações elevadas e positivas entre apreciação global, aroma, sabor e teor alcoólico indicam um efeito elevado desses parâmetros na aceitação dos hidroméis. Os resultados indicaram que os tipos de méis de abelhas com e sem ferrão não influenciaram no perfil sensorial dos hidroméis produzidos.

**Palavras-chaves:** abelhas sociais, fermentação alcoólica, produtos de colmeia

## DO THE BEE HONEYS WITH AND WITHOUT STING INFLUENCE THE SENSORY PROFILE OF MEADS?

**Abstract:** Sensory analysis is a technique with the capacity of responses transmitted by the evaluators through the various sensations that originate from physiological reactions and are captured by the sense organs, generating the interpretation of the intrinsic properties to the products. Considering the progressive economic importance of the mead due to the increase in the demand for fermented products, besides the influence on the production conditions on the quality and the acceptance of the product, this work had the objective to verify if the bee honeys with and without sting influence the profile of the meads produced. Two honey samples of *Apis mellifera*, one of *Melipona fasciculata* and one of *Melipona subnitida* of the Piauí State, Brazil, were used in the preparation of the meads. The musts were prepared separately by diluting the honeys in commercial mineral water, enriched with  $0.75 \text{ g L}^{-1}$  of commercial nutrients and  $15 \text{ g L}^{-1}$  of multifloral bee pollen. After fermentation, the meads were clarified, filtered, physico-chemically and sensorially characterized. A nine-point hedonic scale acceptance test was used, anchored by the extremities of grade 1 (extremely displeased) and grade 9 (greatly enjoyed) by recruiting 50 untrained testers. Of the four meads produced, the one with the highest degree of acceptance was the one elaborated with *A. mellifera* 1 (HA1) honey. Through the correlation matrix, it was verified that the high and positive correlations between global appreciation, aroma, flavor and alcohol content indicate a high effect of these parameters on the acceptance of the meads. The results indicated that the types of bee honeys with and without sting did not influence the sensorial profile of the meads produced.

**Keywords:** social bees, alcoholic fermentation, beehive products

## INTRODUÇÃO

O mel é um alimento natural, composto por cerca de 200 substâncias (Escuredo, Míguez, Fernández-González & Seijo, 2013) e é utilizado no preparo de bebidas, como por exemplo o hidromel, devido a sua grande quantidade de açúcares. Os hidroméis podem ter diferentes sabores de acordo com a origem floral do mel (néctar), aditivos e leveduras utilizados na fermentação (Gupta & Sharma, 2009). As estirpes de *Saccharomyces cerevisiae* são normalmente usadas, assim como na produção de vinho, cerveja e espumantes (Pereira, Dias, Andrade, Ramalhosa & Estevinho, 2009), pois atuam sobre açúcares como a glicose e a frutose, resultando na formação de etanol e dióxido de carbono (Gomes, Barradas, Dias, Verdial, Morais, Ramalhosa & Estevinho 2013). As características sensoriais, principalmente o aroma e o sabor, das bebidas alcoólicas estão diretamente relacionados ao tipo de levedura utilizada no processo fermentativo.

Além das variantes decorrentes de ingredientes adicionais, durante a fermentação e maturação, compostos voláteis são formados, promovendo a diversificação dos aromas e sabores dos hidroméis. Essas substâncias são provenientes do metabolismo secundário das leveduras e as principais são os ésteres como fonte primária de aromas frutados (Sumbly, Grbin & Jiranek, 2010), bem como os álcoois superiores que apresentam aromas frutados, florais e balsâmicos, produzidos como forma de desintoxicação celular pelo excesso de etanol e ésteres presentes no final da fermentação (Ribereau-Gayon, Glories, Maujean & Dubourdiou, 2006).

A análise sensorial é uma técnica com a capacidade de respostas transmitidas pelos avaliadores por meio das diversas sensações que se originam de reações fisiológicas e são captados pelos órgãos dos sentidos, gerando a interpretação das propriedades intrínsecas aos produtos (Sousa, Aquino, Magnani, Albuquerque, Santos & Souza, 2013). A percepção sensorial dos alimentos é complexa, envolve os sentidos visão, olfato, gustação e a percepção química do sabor (Nordin, 2017). Os testes de consumidor são essenciais para o desenvolvimento de produtos, confirmando que os mesmos atendem aos níveis de aceitação (Lawless & Heymann, 2010). Por meio dessa técnica é possível

obter importantes dados quantitativos e qualitativos para o desenvolvimento do produto, influenciando nas decisões de marketing e mercado.

O dimensionamento da aceitabilidade do consumidor é um método para medir a aceitação dos produtos levando em conta os hábitos alimentares, atitudes, crenças e opiniões sobre os produtos alimentícios que podem influenciar sua aceitação (Villegas, Carbonell & Costell, 2009). Muitas ferramentas estão sendo usadas para medir a aceitação e preferência do consumidor por produtos alimentícios, dentre elas, a escala hedônica com 9 pontos (Peryan & Girardot, 1952; Peryan & Pilgrim, 1957).

Considerando a progressiva importância econômica do hidromel devido ao aumento da demanda de produtos fermentados, além da influência nas condições de produção sobre a qualidade e a aceitação do produto, este trabalho teve por objetivo verificar se os méis de abelhas com e sem ferrão influenciam o perfil sensorial dos hidroméis produzidos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Amostras de méis e preparo dos mostos**

Na elaboração dos hidromeis foram utilizadas duas amostras de méis de *Apis mellifera* (A1 e A2), uma de *Melipona fasciculata* (MF) e uma de *Melipona subnitida* (MS) provenientes de quatro municípios do Estado do Piauí, Brasil (Castelo do Piauí, São João do Piauí, Murici dos Portelas e Parnaíba, respectivamente).

Os mostos foram preparados separadamente por meio da diluição do mel em água mineral comercial, enriquecidos com 0,75 g L<sup>-1</sup> de nutrientes comerciais (*Enovit*®) e 15 g L<sup>-1</sup> de pólen apícola multifloral obtendo mostos entre 20,5 e 21 °Brix. Após a preparação dos mostos, foi adicionado o ácido tartárico (*Sigma-Aldrich*®) até se obter valores de pH de 3,88 para um melhor desempenho das leveduras durante a conversão dos açúcares em etanol. A diluição dos méis utilizada no trabalho foi feita afim de se obter bebidas com 10% de etanol. Os mostos foram pasteurizados a 65 °C durante 20 minutos e depois imediatamente resfriados em balde de gelo ocasionando choque térmico.



Para a fermentação foi utilizada a estirpe *Saccharomyces cerevisiae* Q23 Lalvin, pois foi a levedura recomendada para a produção dos hidroméis baseados em estudos realizados por Pereira, Mendes-Ferreira, Oliveira, Estevinho & Mendes-Faia (2013). Seguindo as instruções da embalagem, as leveduras foram hidratadas ( $30 \text{ g hL}^{-1}$ ) nos próprios mostos e colocadas em banho maria a  $37,5 \text{ }^\circ\text{C}$  durante vinte minutos. Após hidratação foram adicionadas aos mostos dando início às fermentações alcoólicas.

Os hidroméis foram produzidos em fermentadores plásticos de 5 L de capacidade contendo 3,5 L de mosto. As fermentações foram mantidas a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  por um período de 168 h (sete dias) e monitoradas diariamente por meio da viabilidade celular e quantificação dos açúcares redutores.

A viabilidade celular foi determinada por meio da quantificação das unidades formadoras de colônias (UFC's) em meio sólido Yeast Peptone Dextrose (YPD -  $20 \text{ g L}^{-1}$  de glicose,  $10 \text{ g L}^{-1}$  de peptona,  $5 \text{ g L}^{-1}$  de extrato de levedura e  $20 \text{ g L}^{-1}$  de agar). Quando necessário, efetuaram-se diluições e as placas foram incubadas a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  durante três a cinco dias (Silva, Junqueira, Silveira, Taniwaki, Santos & Gomes, 2010).

Os açúcares redutores foram quantificados pelo método do DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico) de acordo com o procedimento descrito por Miller (1959), usando a glicose como padrão. Os resultados foram expressos em  $\text{g L}^{-1}$ .

Após o término das fermentações, os hidroméis foram analisados de acordo com a legislação brasileira (Brasil, 2008), em seguida clarificados com bentonita, filtrados e armazenados em garrafas de vidro, em temperatura ambiente, para análise sensorial.

### **Análises físico-químicas**

As avaliações das características dos mostos méis e qualidade dos hidroméis produzidos foram feitas por meio de análises físico-químicas no início e final das fermentações. Para a caracterização dos mostos foram determinados o pH,  $^\circ\text{Brix}$ , acidez total (OIV, 2006) e nitrogênio assimilável (Aerny, 1996). Os hidroméis foram avaliados quanto ao pH,  $^\circ\text{Brix}$ , acidez total, sulforoso total ( $\text{SO}_2$ ), acidez volátil, teor alcoólico (OIV, 2006) e nitrogênio assimilável (Aerny, 1996).

## **Análise sensorial**

O teste sensorial foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (CEP/UFRB), protocolo nº 01070918.1.0000.0056.

As bebidas foram analisadas sensorialmente usando teste de aceitação com escala hedônica estruturada em nove pontos, ancorada pelas extremidades de nota 1 (desgostei extremamente) e nota 9 (gostei extremamente) (Behrens, 2011). Foram avaliados os seguintes atributos: apreciação global, aparência, cor, aroma, sabor e teor alcoólico. Procedeu-se então a avaliação sensorial das respectivas bebidas após 30 dias da produção.

Foram recrutados 50 provadores (27 mulheres e 23 homens), maiores de idade (de 18 a 45 anos), entre professores, funcionários e alunos da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB/Cruz das Almas). O painel de consumidores foi elaborado com pessoas sem nenhum tipo de treino e escolhidas ao acaso. Para cada provador, foram oferecidas quatro amostras das bebidas em temperatura ambiente, água potável, biscoito água e sal, grãos de café e a ficha de avaliação com escala hedônica (Tabela 1). Numa sala específica para provas foram servidos 25 mL de cada hidromel em copos descartáveis transparentes de acrílico, codificados com algarismos de três dígitos. Os provadores foram orientados a comer um pedaço de biscoito água e sal e tomar um pouco de água entre as amostras (limpeza do palato).

## **Análise estatística**

Inicialmente, realizou-se uma análise descritiva para todos parâmetros sensoriais. Posteriormente, os dados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e de Levene para verificação da normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, respectivamente. Os dados não apresentaram os pressupostos para *one-way* ANOVA. Assim, optou-se por analisar os dados pelo teste de *rank* não-paramétrico de Kruskal-Wallis para estabelecer uma diferença geral entre os tratamentos, seguido pelo teste de Dunn com ajuste dos valores de *p-values* para a comparação múltipla dos pares de *ranks* médios. Correlação de *Spearman* foi realizada para verificar a existência associação entre os parâmetros. Todas as

análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico R (versão 3.3.0) e adotado 5% ( $p < 0.05$ ) como nível de significância.

**Tabela 1.** Ficha de avaliação sensorial com escala hedônica para os hidroméis de *A. mellifera*, *M. fasciculata* e *M. subnitida*.

Por favor, analise cada amostra e assinale com um "X", para cada atributo apresentado na escala de aceitabilidade. Enxágue a boca com água após a avaliação de cada amostra. Qualquer atributo diferente dos apresentados, poderá ser descrito no item comentários.

Sexo: \_\_\_\_\_. Data: \_\_\_\_\_. Código da amostra: \_\_\_\_\_.

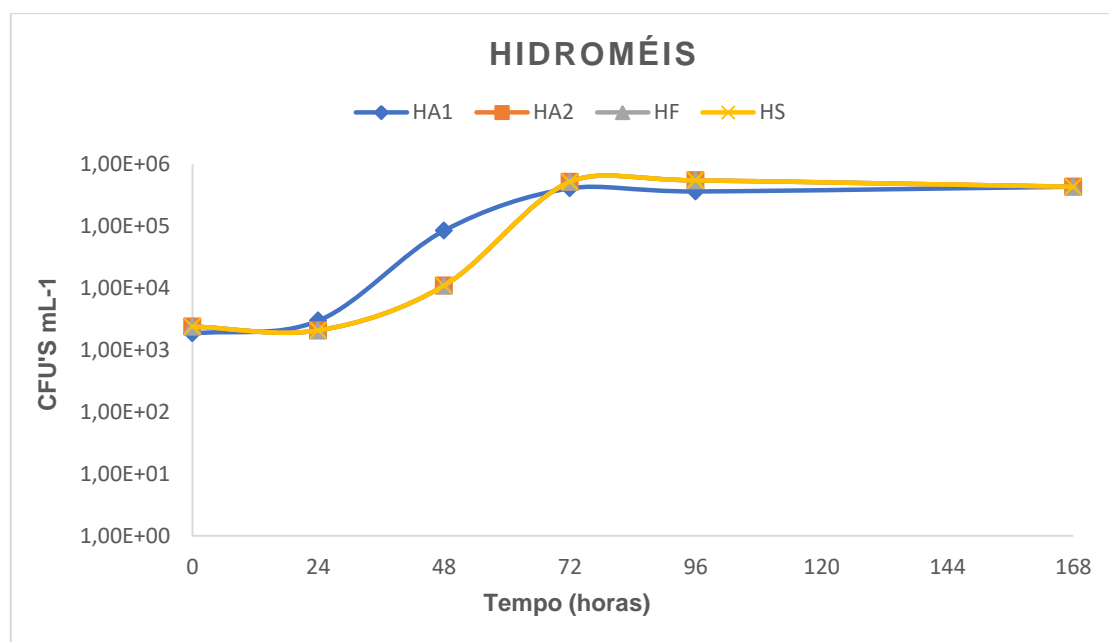
Escala	Apreciação global	Aparência	Cor	Aroma	Sabor	Teor alcoólico
9. Gostei extremamente						
8. Gostei muito						
7. Gostei moderadamente						
6. Gostei ligeiramente						
5. Não gostei nem desgostei						
4. Desgostei ligeiramente						
3. Desgostei moderadamente						
2. Desgostei muito						
1. Desgostei extremamente						

Comentários: \_\_\_\_\_

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

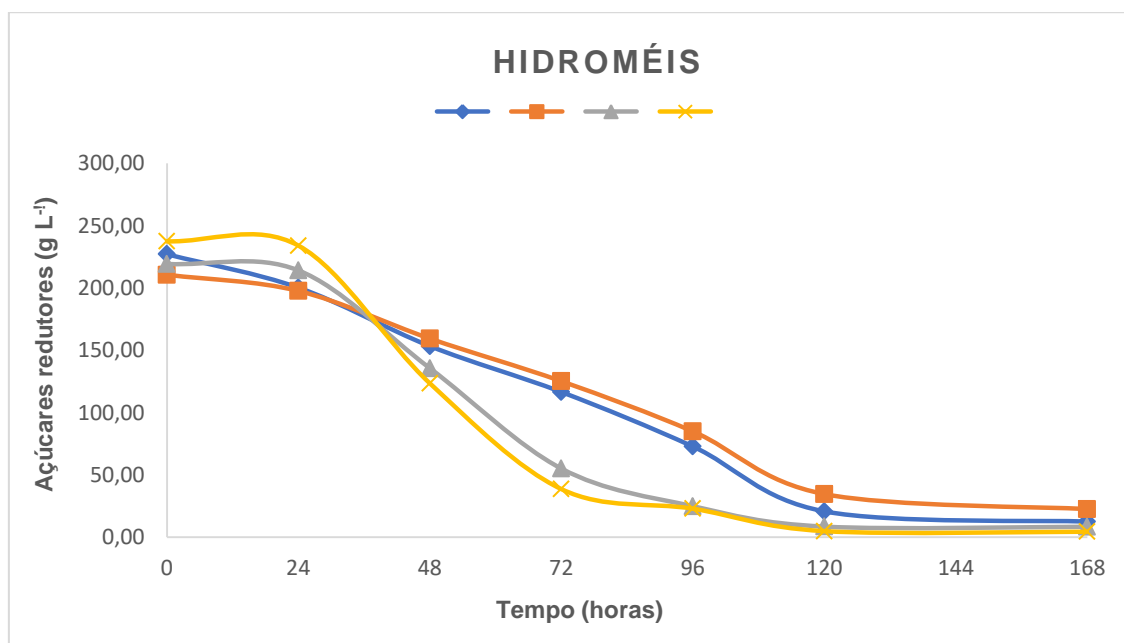
A evolução das fermentações dos hidroméis ao longo do tempo encontra-se apresentada nas Figuras 1 e 2.

A fase exponencial para as unidades formadoras de colônias (UFCs) se iniciou entre 24 e 48 horas após inoculação dos mostos com *S. cerevisiae*, sendo que esse comportamento é esperado (Figura 1), pois leveduras previamente hidratadas antes da inoculação reduzem a fase de adaptação ao meio (Silva, Carvalho, Sodré & Estevinho, 2018). Após a inoculação, a fase estacionária iniciou após 72 horas e o término da fermentação ocorreu entre 144 e 168 horas.



**Figura 1.** Variações das unidades formadoras de colônia (UFCs) de *S. cerevisiae* em função do tempo para as fermentações dos hidroméis de *Apis mellifera* (HA1 e HA2), *Melipona fasciculata* (HF) e *M. subnitida* (HS).

O consumo de açúcares redutores foi acentuado até as 72 horas e após esse tempo, foi mais lento até a estabilização (entre 144 e 168 horas), indicando o final das fermentações (Figura 2).



**Figura 2.** Variações dos açúcares redutores ao longo do tempo durante as fermentações dos hidroméis de *Apis mellifera* (HA1 e HA2), *Melipona fasciculata* (HF) e *M. subnitida* (HS).

## **Caracterização físico-química dos mostos de mel e hidroméis**

A caracterização físico-química de bebidas fermentadas é fundamental para a determinação de sua identidade e qualidade. Na Tabela 2 estão demonstrados os valores médios encontrados nas análises físico-químicas realizadas nos mostos méis e nos hidroméis de *A. mellifera* (MA1, HA1 e MA2, HA2), *M. fasciculata* (MF, HF) e *M. subnitida* (MS, HS).

Houve variação estatística dos parâmetros físico-químicos analisados dos quatro tipos de hidroméis produzidos, exceto para o nitrogênio assimilável e teor alcoólico. Os resultados obtidos estão de acordo com a legislação brasileira para produção de hidromel (Brasil, 2008) e os produtos adequados ao consumo humano.

**Tabela 2.** Médias dos parâmetros físico-químicos avaliados para quatro tipos de mostos méis (MA1, MA2, MF e MS) e hidroméis (HA1, HA2, HF e HS) produzidos a partir de méis de três espécies de abelhas sociais *Apis mellifera* (A1 e A2), *Melipona fasciculata* (F) e *Melipona subnitida* (S).

<b>Parâmetros físico-químicos</b>				
<b>Mosto</b>	<b>MA1</b>	<b>MA2</b>	<b>MF</b>	<b>MS</b>
<b>°Brix</b>	21,00 ± 0,2 a	21,00 ± 0,1 a	20,50 ± 0,4 a	20,50 ± 0,5 a
<b>pH</b>	3,88 ± 0,1 a	3,88 ± 0,1 a	3,88 ± 0,2 a	3,88 ± 0,2 a
<b>Açúcares redutores (g L<sup>-1</sup>)</b>	277,15 ± 0,2 a	210,70 ± 0,1 c	219,36 ± 0,1 c	237,53 ± 0,2 b
<b>Acidez total (g L<sup>-1</sup> ác. tartárico)</b>	1,30 ± 0,2 b	1,12 ± 0,2 b	2,20 ± 0,1 a	2,32 ± 0,1 a
<b>Nitrogênio assimilável (mg L<sup>-1</sup>)</b>	277,15 ± 1,0 a	210,70 ± 1,0 c	219,36 ± 2,0 c	237,53 ± 2,0 b
<b>Parâmetros físico-químicos</b>				
<b>Hidromel</b>	<b>HA1</b>	<b>HA2</b>	<b>HF</b>	<b>HS</b>
<b>°Brix</b>	7,00 ± 0,5 b	8,50 ± 0,5 a	6,00 ± 0,02c	5,00 ± 0,1 d
<b>pH</b>	2,85 ± 0,2 b	2,71 ± 0,1 b	3,10 ± 0,3 a	3,10 ± 0,3 a
<b>Açúcares redutores (g L<sup>-1</sup>)</b>	12,70 ± 0,5 b	22,71 ± 0,5 a	8,60 ± 0,5 c	4,54 ± 0,3 d
<b>Acidez total (g L<sup>-1</sup> ác. tartárico)</b>	4,12 ± 0,1 b	3,40 ± 0,2 c	4,90 ± 0,3 a	4,55 ± 0,2 a
<b>Nitrogênio assimilável (mg L<sup>-1</sup>)</b>	42,00 ± 0,5 a	42,00 ± 0,5 a	42,00 ± 0,5 a	42,00 ± 0,5 a
<b>Sulfuroso total (mg L<sup>-1</sup>)</b>	43,52 ± 0,6 a	43,52 ± 0,6 a	25,60 ± 0,2 b	23,04 ± 0,3 b
<b>Teor alcoólico (%)</b>	11,10 ± 0,5 a	10,75 ± 0,5 a	10,40 ± 0,5 a	10,25 ± 0,5 a
<b>Acidez volátil (g L<sup>-1</sup> ác. acético)</b>	0,66 ± 0,4 b	0,70 ± 0,4 b	0,90 ± 0,5 a	0,95 ± 0,5 a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

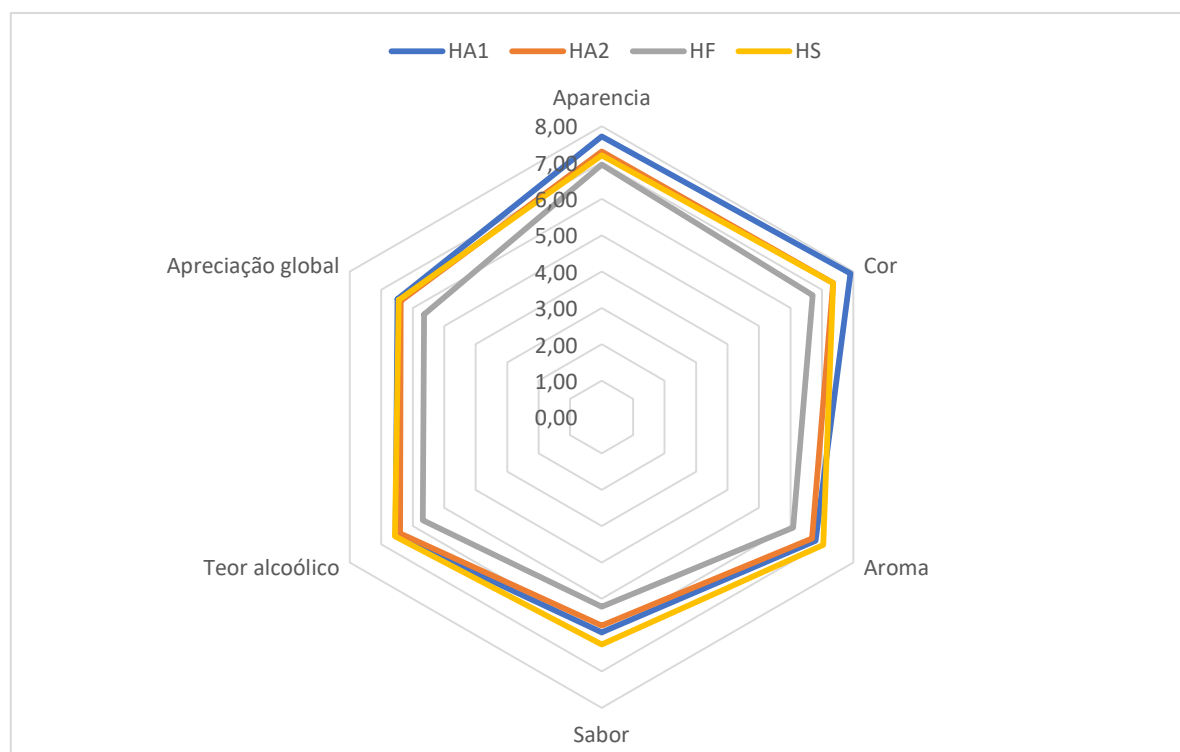
## **Análise sensorial**

Os produtos apresentaram boa aceitação por parte do painel de provadores, com pontuações satisfatórias para a maioria dos quesitos. O valor médio da pontuação geral de apreciação de cada produto, com desvio padrão, mediana, mínimo, máximo e erro padrão são mostrados na Tabela 3. A aceitabilidade dos hidroméis variou de 5,0 “não gostei nem desgostei” para 8,0 “gostei muito” na escala hedônica de nove pontos (Figura 3). Os resultados mostram que os tipos de méis utilizados na elaboração dos hidroméis interferiram na aceitação dos provadores para os atributos sensoriais avaliados.

**Tabela 3.** Análise descritiva dos atributos sensoriais numa escala hedônica de nove pontos, sendo 1 = desgostei extremamente e 9 = gostei extremamente referentes às amostras de quatro tipos de hidroméis produzidos a partir de méis de *A. mellifera* (HA1 e HA2), *M. fasciculata* (HF) e *M. subnitida* (HS).

Atributos/Amostra	HA1					
	Média	DP	Mediana	Mín.	Máx.	EP
Apreciação global	6,48	2,03	7,00	2,00	9,00	0,29
Aparência	7,72	1,60	8,00	3,00	9,00	0,23
Cor	7,90	1,39	8,00	3,00	9,00	0,20
Aroma	6,80	1,76	7,00	3,00	9,00	0,25
Sabor	5,92	2,15	6,50	1,00	9,00	0,30
Teor alcoólico	6,54	1,93	7,00	2,00	9,00	0,27
Atributos/Amostra	HA2					
	Média	DP	Mediana	Mín.	Máx.	EP
Apreciação global	6,38	1,78	7,00	2,00	9,00	0,25
Aparência	7,30	1,66	8,00	2,00	9,00	0,23
Cor	7,36	1,35	8,00	3,00	9,00	0,19
Aroma	6,68	1,70	7,00	2,00	9,00	0,24
Sabor	5,74	2,17	6,00	1,00	9,00	0,31
Teor alcoólico	6,40	1,64	7,00	2,00	9,00	0,23
Atributos/Amostra	HF					
	Média	DP	Mediana	Mín.	Máx.	EP
Apreciação global	5,64	2,03	6,00	1,00	9,00	0,29
Aparência	6,94	1,82	7,00	1,00	9,00	0,26
Cor	6,70	1,92	7,00	2,00	9,00	0,27
Aroma	6,08	1,71	6,50	3,00	9,00	0,24
Sabor	5,22	2,38	5,50	1,00	9,00	0,34
Teor alcoólico	5,68	1,79	6,00	1,00	9,00	0,25
Atributos/Amostra	HS					
	Média	DP	Mediana	Mín.	Máx.	EP
Apreciação global	6,44	1,98	7,00	1,00	9,00	0,28
Aparência	7,20	1,39	7,00	5,00	9,00	0,20
Cor	7,36	1,29	8,00	5,00	9,00	0,18
Aroma	7,04	1,54	8,00	2,00	9,00	0,22
Sabor	6,26	1,97	7,00	2,00	9,00	0,27
Teor alcoólico	6,56	1,90	7,00	1,00	9,00	0,27





**Figura 3.** Representação espacial das médias dos atributos avaliados no teste de aceitação dos hidroméis produzidos a partir de méis de *A. mellifera* (HA1 e HA2), *M. fasciculata* (HF) e *M. subnitida* (HS) do Piauí.

O hidromel HA1 obteve a maior aceitação em três dos seis quesitos avaliados: apreciação global (6,48), aparência (7,72) e cor (7,90). Já o HS foi o que apresentou as maiores notas nos quesitos aroma (7,04) e sabor (6,26). O teor alcoólico apresentou o mesmo padrão de aceitação para todos os hidroméis produzidos.

A apreciação global nada mais é do que a soma dos fatores de qualidade que contribuem na determinação do grau de aceitação do produto. A aparência e a cor são as avaliações externas das características visuais e os primeiros contatos do consumidor com os produtos. Um estudo realizado por Ribeiro-Junior, Canaver & Bassan (2015), com produção de hidromel de *A. mellifera*, mostrou que a maioria dos entrevistados (41,44%) gostou muito da aparência do produto, corroborando com os resultados encontrados no presente estudo (36,5%).

Por meio da análise sensorial, Ribeiro-Junior et al. (2015) verificaram que para o sabor, a maioria dos entrevistados gostou muito (45,73%) ou gostou moderadamente (34,28%) do hidromel de *A. mellifera*, apresentando baixo índice de rejeição do produto. No presente estudo, apenas 9% dos

entrevistados gostou muito do sabor dos hidroméis de *A. mellifera*, mostrando um índice baixo de apreciação para este quesito. Acredita-se que isso possa ter ocorrido pelo fato de os hidroméis serem secos. Segundo Landívar (2011), diretamente relacionados com os sentidos do sabor e do olfato surgem os conceitos de aroma e de *flavour*, que interessa distinguir, pela sua importância na avaliação sensorial dos alimentos. Quando os alimentos se encontram na boca, os compostos voláteis percebidos no nariz, por via retro nasal, determinam o aroma. O sabor é um atributo complexo, sendo uma experiência mista de sensações olfativas, gustativas e táteis percebidas durante a degustação (ABNT, 1998).

Na caracterização do perfil sensorial de hidromel de *A. mellifera* produzido por *S. cerevisiae* IZ888 (Rivaldi, Silva, Coelho & Oliveira, 2009), nota-se que, para a amostra de hidromel envelhecido em garrafão de vidro, 82% dos provadores avaliaram positivamente o produto quanto a sua aparência. No tocante aos atributos cor e aroma, observa-se que houve uma aceitação de 82 e 74%, respectivamente. Quanto ao atributo sabor do produto a aceitabilidade foi de 58%, enquanto que, para o atributo teor alcoólico, a aceitabilidade foi de aproximadamente 38%.

Kempka & Mantovani (2013) produziram três tipos de hidroméis a partir de méis de angico, melato e silvestre. Em média, todos os atributos obtiveram nota superior a 6, que representa “gostei ligeiramente” na ficha de avaliação. O produto mais bem aceito foi o produzido a partir do mel de angico, apesar do mesmo, não ter se diferenciado estatisticamente do produzido a partir do mel silvestre. O hidromel de mel de melato teve a menor aceitação na avaliação geral, que pode ser consequência da menor aceitação pelo sabor, devido principalmente ao gosto residual de levedura.

Acredita-se que as diferenças no grau de aceitação dos parâmetros de cada produto avaliado seja devido ao tipo de mel utilizado na elaboração do hidromel, já que a composição, cor, aroma e sabor do mel dependem principalmente das flores, regiões geográficas, clima e espécies de abelhas envolvidas em sua produção, e são afetados por condições climáticas, processamento, manipulação, embalagem e tempo de armazenamento (Tornuk, Karaman, Ozturk, Toker, Tastemur & Sagdig 2013).

Além das avaliações dos critérios estabelecidos com nota, houve um espaço onde foram citadas algumas características, críticas e sugestões dos avaliadores em relação aos produtos. Sobre HA1, os avaliadores acreditaram que, devido à cor mais intensa, o hidromel fosse doce. Porém, ao experimentar, tiveram a sensação de amargor e secura. Em relação a HA2, o sabor foi mais elogiado e acredita-se que isso se deva à maior quantidade de açúcares residuais no produto, tornando-o levemente mais adocicado. O hidromel HF foi o que menos agradou em relação ao sabor sendo considerado pouco encorpado. Já HS teve como características peculiares o aroma frutado e o teor alcoólico equilibrado, sendo considerado o melhor hidromel pelos avaliadores.

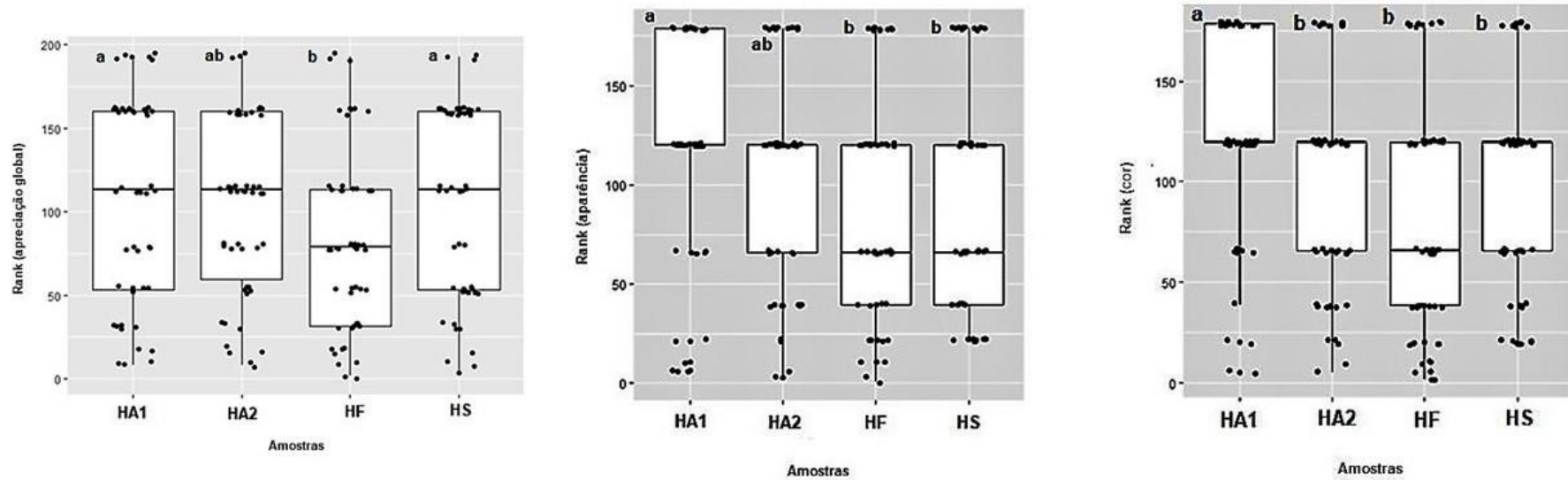
Em relação ao teste de *rank* não paramétrico de Kruskal-Wallis, os dados são apresentados nas Figuras 4 e 5.

Para o atributo apreciação global, observa-se que não houve diferenças estatísticas significativas entre as amostras HA1, HA2 e HS. Elas apresentaram valores de *rank* mais altos (109,12, 102,72 e 108,05, respectivamente). A amostra HF não diferiu estatisticamente de HA2, porém apresentou o menor valor para o *rank* (82,11) e conclui-se que é a amostra menos aceita entre os avaliadores (Figura 4).

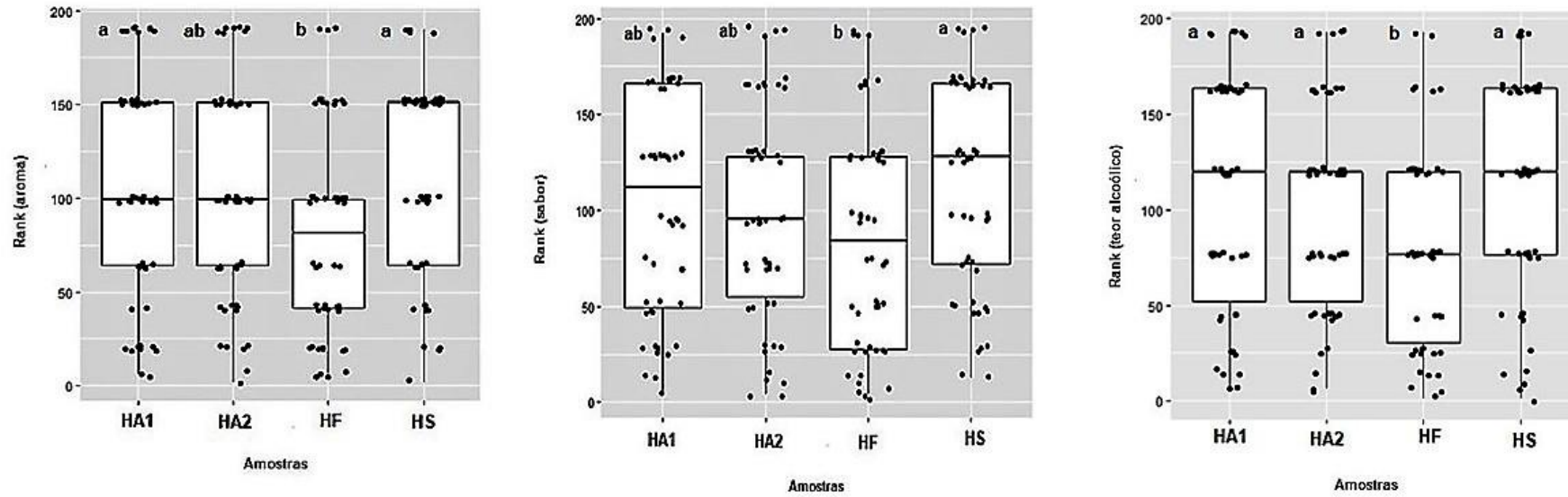
Pode-se observar que no quesito aparência, HA2, HF e HS não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si. HA1 apresentou as maiores notas médias (*rank* = 120,38). O mesmo padrão pode ser visto em relação à cor. Apenas HA1 apresentou diferenças estatísticas significativas das demais amostras, além de valor de *rank* maior, indicando ser mais aceita que as demais (Figura 4).

Em relação ao aroma e ao sabor, HA1, HA2 e HS não mostraram diferenças estatísticas significativas entre si. HA2 também não mostrou diferença estatística entre HF, porém este último apresentou os menores valores de *rank* para os dois atributos (80,92 e 86,67, respectivamente) sendo o hidromel menos apreciado (Figura 5).

Para o teor alcoólico, não houve diferenças estatísticas significativas entre os produtos HA1, HA2 e HS, porém os maiores *ranks* foram para HS (110,30) e HA1 (109,84), indicando as preferências dos consumidores. HF foi o menos aceito, já que obteve o menor *rank* (79,36) (Figura 5).



**Figura 4.** Box plots mostrando os intervalos de valores dos parâmetros apreciação global, aparência e cor referentes às amostras de quatro tipos de hidroméis produzidos a partir de méis de *Apis mellifera* (HA1 e HA2), *Melipona fasciculata* (HF) e *Melipona subnitida* (HS).



**Figura 5.** Box plots mostrando os intervalos de valores dos quesitos aroma, sabor e teor alcoólico referentes às amostras de quatro tipos de hidroméis produzidos a partir de méis de *Apis mellifera* (HA1 e HA2), *Melipona fasciculata* (HF) e *Melipona subnitida* (HS).

## Correlação

No estudo da matriz de correlação de *Spearman*, verificou-se que os parâmetros sensoriais apresentam correlações positivas entre si e estatisticamente significativas ( $P < 0,01$ ) que variaram entre 0,89 a 0,97. As correlações elevadas e positivas entre apreciação global, aroma, sabor e teor alcoólico (0,96, 0,97 e 0,97;  $P < 0,01$ ) indicaram um efeito elevado desses parâmetros na aceitação dos hidroméis (Tabela 4).

Um estudo realizado por de Gomes, Dias, Cadavez, Verdial, Morais, Ramalhosa & Estevinho (2015), indicou que os teores alcoólicos dos hidroméis não tiveram efeito ( $P > 0,05$ ) sobre os atributos sensoriais estudados (aroma, doçura, *flavour*, sensação de álcool e apreciação geral). Os mesmos autores observaram que a análise de correlação entre os atributos sensoriais dos hidroméis mostrou que a apreciação global apresentou alta correlação ( $> 0,75$ ) com a doçura e o *flavour*, indicando a importância relativa destes dois atributos para aceitação dos produtos pelos consumidores.

**Tabela 4.** Matriz de correlação (coeficiente de correlação de *Spearman*) para avaliações qualitativas dos hidroméis produzidos a partir dos méis de *A. mellifera* (HA1 e HA2), *M. fasciculata* (HF) e *M. subnitida* (HS) do Piauí.

	Apreciação global	Aparência	Cor	Aroma	Sabor	Teor alcoólico
<b>Apreciação global</b>	-					
<b>Aparência</b>	0,91					
<b>Cor</b>	0,91	0,96				
<b>Aroma</b>	0,96	0,89	0,90			
<b>Sabor</b>	0,97	0,91	0,91	0,96		
<b>Teor alcoólico</b>	0,97	0,89	0,90	0,95	0,96	-

Todas as correlações foram significativas ( $P < 0,01$ ).

## CONCLUSÃO

Os resultados indicam que os tipos de méis de abelhas com e sem ferrão não influenciaram no perfil sensorial dos hidroméis produzidos.

## REFERÊNCIAS

ABNT – Associação brasileira de normas técnicas (1998). NBR 14141: escalas utilizadas em análise sensorial de alimentos e bebidas. Rio de Janeiro, 1998.

Aerny, J. (1996). Composés azotes desmoûts et des vins. Ver. Suisse Vitic. Arboric Hortic. 28, 161-165.

Behrens, J. (2011). Análise sensorial de bebidas. In: VENTURINI FILHO, W. G. (Coord.). Indústria de Bebidas: Inovação, Gestão e Produção. São Paulo: Edgard Blucher, cap. 9, p. 183-213.

Brasil, Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (2008). Secretaria de defesa agropecuária. Portaria nº 64, de 23 de abril de 2008. Regulamentos técnicos para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para as bebidas alcoólicas fermentadas: fermentado de fruta, sidra, hidromel, fermentado de cana, fermentado de fruta licoroso, fermentado de fruta composto e saquê. Brasília.

Escuredo, O., Míguez, M., Fernández-González, M., & Seijo, M. C. (2013). Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. Food Chemistry 138, 851-856.

Gomes, T., Barradas, C., Dias, T., Verdial, J., Morais, J. S., Ramalhosa, E., & Estevinho, L. M. (2013). Optimization of mead production using response surface methodology. Food and Chemical Toxicology 59, 680-686.

Gomes, T., Dias, T., Cadavez, V., Verdial, J., Morais, J.S., Ramalhosa, E., & Estevinho, L. M. (2015). Influence of sweetness and ethanol content on mead acceptability. Pol. J. Food Nutr. Sci. 65(2), 137-142.

Gupta, R., & Sharma, K. K. (2009). Production technology and quality characteristics of mead and fruit-honey wines: a review. *Natural Products Radiance* 8(4), 345-355.

Kempka, A. P. & Mantovani, G. Z. (2013). Produção de hidromel utilizando méis de diferentes qualidades. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais* 15(3), 273-281.

Landívar, E. G. (2001). Bases psicofisiológicas del análisis sensorial: El gusto y el olfato, In: *Análisis sensorial de alimentos. Métodos e aplicaciones*, Ibáñez, C., Barcina, E. (Ed). Springer, Barcelona, pp 14 – 47.

Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). *Sensory evaluation of food: Principles and practices* (2nd ed.). New York: Springer Science and Business Media.

Miller, G. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* 31, 426-428.

Nordin, S. (2017). Chapter 3 – Sensory Perception of Food and Aging. *Food the Aging Population*, 2ed, p.57-82.

Organisation International de la Vigne e du Vin. (2006). *Recueil dès méthodes internationales d'analyse des vins et des mouts*, Paris.

Pereira, A. P., Dias, T., Andrade, J., Ramalhosa, E., & Estevinho, L. M. (2009). Mead production: Selection and characterization assays of *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Food Chem. Toxicol.* 47, 205-2063.

Pereira, A. P., Mendes-Ferreira, A., Oliveira, J. M., Estevinho, L. M., & Mendes-Faia, A. (2013). High-cell-density fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* for the optimisation of mead production. *Food Microbiol.* 33, 114-123.

Peryam, D. R., & Girardot, N. F. (1952). Advanced taste-test method. *Food Engineering* 24(7), 58–61.



Peryam, D. R., & Pilgrim, F. J. (1957). Hedonic scale method of measuring food preferences. *Food Technology* 11, 9–14.

R Development core team. R: A language and environment for statistical computing. 2012. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>

Ribeiro-Junior, M. R., Canaver, A. B., & Bassan, C. F. D. (2015). Produção de hidromel: análise físico-química e sensorial. *UNIMAR Ciências* 24(1/2), 59-63.

Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2006). *Handbook of Enology – Vol. 2: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*, Wiley, Chichester.

Rivaldi, J. D., Silva, M. M., Coelho, T. C., & Oliveira, C. T. (2009). Caracterização e perfil sensorial de hidromel produzido por *Saccharomyces cerevisiae* IZ888. *Brazilian Journal of Food Technology* 7, 60-63.

Silva, N., Junqueira, V.C.A., Silveira, N.F.A., Taniwaki, M.H., Santos, R.F.S., & Gomes, R.A.R. (2010) *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água*, Livraria Varela, São Paulo, Brasil.

Silva, S. M. P. C. S., Carvalho, C. A. L., Sodr e, G. S., & Estevinho, L. M. (2018). Production and characterization of mead from the honey of *Melipona scutellaris* stingless bees. *J. Inst. Brew.*, DOI 10.1002/jib.485.

Sousa, J. M. B., Aquino, I. S., Magnani, M., Albuquerque, J. R., Santos, G. G., & Souza, E. L. (2013). Aspectos físico-químicos e perfil sensorial de méis de meliponas da região do Semiárido, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias* 34, 1765-1774.

Sumby, K. M., Grbin, P. R., & Jiranek, V. (2010). Microbial modulation of aromatic esters in wine: Current knowledge and future prospects. *Food Chemistry* 121, 1-16.

Tornuk, F., Karaman, S., Ozturk, I., Toker, O. S., Tastemur, B., & Sagdic, O. (2013). Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile. *Industrial Crops and Products* 46 124-131.

Villegas, B., Carbonell, I., & Costell, E. (2009). Acceptability of milk and soymilk vanilla beverages: Demographics consumption frequency and sensory aspects. *Food Science and Technology International* 15, 203-210.

## **ARTIGO 4**

### **CARACTERIZAÇÃO DE VINAGRES DE MÉIS DE DUAS ABELHAS SOCIAIS DO NORDESTE BRASILEIRO**

---

Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico *Food Chemistry*.

## CARACTERIZAÇÃO DE VINAGRES DE MÉIS DE DUAS ABELHAS SOCIAIS DO NORDESTE BRASILEIRO

**Resumo:** O vinagre é um produto natural obtido da acetificação do vinho e utilizado há muito tempo pelo homem, como medicamento e/ou condimento. Atualmente, percebe-se um grande potencial para a industrialização deste produto utilizando o mel como matéria prima. Para absorver o excedente de mel e para efeito de aumentar a variedade de subprodutos da colmeia, o trabalho objetivou a caracterização de vinagres utilizando méis de abelhas sociais do Nordeste brasileiro, afim de oferecer novas alternativas para os pequenos produtores de mel na diversificação dos seus produtos. Utilizou-se méis de *Apis mellifera* e de *Melipona fasciculata* provenientes do Estado do Piauí, Brasil. As bactérias acéticas foram obtidas por meio da fermentação da mistura de vinagre comercial não pasteurizado de maçã e hidroméis de *Apis* e *Melipona* obtendo-se assim, os vinagres fortes de ambos os tipos de méis. As fermentações acéticas ocorreram em barril de carvalho de 5 L pelo processo de Orleans. Inicialmente, foram misturados 1 L do vinagre forte de maçã com 1 L de hidromel. Após isso, a cada semana foi adicionado ao barril 1 L de hidromel e este procedimento ocorreu até que se completasse 2/3 do barril. Durante o processo de fermentação acética foram feitas análises de acompanhamento verificando o teor alcoólico, acidez total e acidez volátil. Ao término das fermentações, os produtos foram analisados de acordo com a legislação brasileira, pasteurizados e armazenados em garrafas plásticas em temperatura ambiente. Os vinagres apresentaram-se dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira, exceto no quesito acidez volátil. Os fermentados acéticos obtidos apresentaram características físico-químicas distintas e foi possível observar que o vinagre de mel de *Melipona* possui maior teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelo método do DPPH.

**Palavras-chaves:** abelhas sociais, fermentação acética, produtos da colmeia.

## CHARACTERIZATION OF HONEY VINEGARS OF *Apis mellifera* AND *Melipona fasciculata* FROM BRAZILIAN NORTHEAST

**Abstract:** Vinegar is a natural product obtained from the wine's acetylation and has been used for a long time by man, as medicine and/or seasoning. Currently, there is great potential for the industrialization of this product using honey as a raw material. In order to absorb the honey surplus and to increase the variety of by-products of the hive, the work aimed the characterization of vinegars using honeys of social bees from Brazilian Northeast, in order to offer new alternatives for small honey producers in the diversification of your products. Honeys of *Apis mellifera* and *Melipona fasciculata* from two municipalities of the Piauí State, Brazil were used. The acetic bacteria were obtained by fermentation of the unpasteurized commercial apple vinegar mixture and the produced meads, thus obtaining the strong vinegars of *Apis* and *Melipona* honeys. The acetic fermentations occurred in 5 L oak barrel by the Orleans process. Initially, 1 L of the apple's strong honey vinegar was mixed with 1 L of mead. After this, 1 L of mead was added to the barrel each week and this procedure occurred until 2/3 of the barrel was completed. During the acetic fermentation process, follow-up analyzes were carried out to verify the alcohol content, total acidity and volatile acidity. At the end of the fermentations, the vinegars were analyzed according to Brazilian legislation, pasteurized and stored in plastic bottles at room temperature. The vinegars were within the standards required by Brazilian legislation, except in the case of volatile acidity. The obtained acetic fermentations had different physicochemical characteristics and it was possible to observe that the *Melipona* honey vinegar has a higher content of total phenolic compounds and antioxidant activity by the DPPH method.

**Keywords:** social bees, acetic fermentation, beehive products.

## INTRODUÇÃO

O vinagre é um alimento fermentado típico com uma história de mais de 10.000 anos e produzido por transformação biológica via microrganismos (Mas, Torija, García-Parrilla & Troncoso, 2014). Sua fermentação geralmente ocorre em dois estágios, ou seja, a conversão anaeróbica facultativa de glicose a etanol por leveduras (*Saccharomyces*) e a oxidação aeróbica de etanol a ácido acético por *Acetobacter* (Ho, Lazim, Farzy, Zaki & Lim, 2017). Na oxidação de etanol, as bactérias acéticas convertem o etanol em ácido acético via acetaldeído (Valera, Torija, Mas & Mateo, 2015).

Muito utilizado no mundo como condimento e conservante de alimentos, o vinagre é considerado um importante complemento para a alimentação humana. Desde a antiguidade, numerosos tipos de vinagres têm sido considerados bebidas saudáveis e usados para fins médicos (Budak, Aykin, Seydim, Greene & Guzel-Seydim, 2014). Ele contém aminoácidos abundantes, ácidos orgânicos e minerais proporcionando vários efeitos benéficos ao organismo humano, como: antioxidante, estimulante do apetite, recuperação da fadiga, efeitos redutores de lipídios e regulação da pressão arterial (Horiuchi, Kanno & Kobayashi, 2000; Chou, Liu, Yang, Wu & Chen, 2015).

O fermentado acético ou vinagre é um produto com acidez volátil mínima de  $4 \text{ g } 100\text{mL}^{-1}$ , expressa em ácido acético. Ele pode se classificar quanto à sua origem em vinagre de vinho, de bagas, de sidra, de álcool, de cereais, de malte, de malte destilado, de mel, vinagres aromatizados e com especiarias (Brasil, 2009).

Existe um interesse crescente no desenvolvimento de novos vinagres de substratos alternativos como por exemplo: morango (Ubeda, Callejón, Hidalgo, Torija, Troncoso, & Morales, 2013), jabuticaba (Dias, Silva, Souza, Magalhães-Guedes, Ribeiro & Schwan, 2016), cebola (Lee, Lee, Park, Jang & Park, 2017), batata doce (Wu, Yao, Cao, Mu, Luo, Zheng, Jiang & Li, 2017), óleo de oliva (De Leonardis, Macciola, Iorizzo, Lombardi, Lopez & Marconi, 2018), cereais (Lu, Wang, Zhang, Mao, Shi & Xu, 2018) dentre outros. Até o momento, o mel não é suficientemente investigado para este fim e pode ser considerado uma excelente matéria prima para a produção de fermentados acéticos. Os produtos obtidos a partir de diferentes tipos de méis podem conter, em sua composição, substâncias

com grande potencial antioxidante. Os méis de abelhas sociais, principalmente os de abelhas sem ferrão ainda são pouco explorados tecnologicamente para a produção de derivados com maior valor agregado.

Para absorver o excedente de mel e para efeito de aumentar a variedade de subprodutos da colmeia, o trabalho objetivou a caracterização de vinagres utilizando méis de abelhas sociais do Nordeste brasileiro, afim de oferecer novas alternativas para os pequenos produtores de mel na diversificação dos seus produtos. Os fermentados acéticos de mel podem ser produzidos de forma artesanal e constituir uma importante estratégia de agregação de valor a propriedades familiares rurais, destacando-se aquelas situadas no Nordeste do Brasil.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Amostras de méis, preparo dos hidroméis e análises físico-químicas**

Na elaboração dos hidromeis foram utilizadas duas amostras de méis de abelhas sociais *Apis mellifera* e *Melipona fasciculata*, provenientes de dois municípios do Estado do Piauí, Brasil (São João do Piauí e Murici dos Portelas respectivamente).

Os mostos foram preparados separadamente através da diluição do mel em água mineral comercial, enriquecidos com 0,75 g L<sup>-1</sup> de nutrientes comerciais (*Enovit*®) e 15 g L<sup>-1</sup> de pólen apícola multifloral obtendo mostos entre 21 e 22 °Brix. Após a preparação dos mostos, foi adicionado o ácido tartárico (*Sigma-Aldrich*®) até se obter valores de pH de 3,88 para um melhor desempenho das leveduras durante a conversão de açúcares em etanol. A diluição dos méis utilizada no trabalho foi feita afim de se obter uma bebida com 10% de etanol. Os mostos foram pasteurizados a 65 °C durante 20 minutos e depois imediatamente resfriados em baldes de gelo ocasionando choque térmico.

Para a fermentação foi utilizada a estirpe *Saccharomyces cerevisiae* Q23 Lalvin. Seguindo as instruções da embalagem, as leveduras foram hidratadas (30 g hL<sup>-1</sup>) nos próprios mostos e colocadas em banho maria a 37,5 °C durante vinte minutos. Após hidratação foram adicionadas aos mostos dando início às fermentações alcoólicas.

Os hidroméis foram produzidos em fermentadores plásticos de 5 L de capacidade contendo 3,5 L de mosto. As fermentações foram mantidas a 25 °C por um período de 168 horas (sete dias). Após o término das fermentações, os hidroméis foram analisados de acordo com a legislação brasileira (Brasil, 2008), em seguida filtrados e pasteurizados a 65 °C durante 20 minutos.

As avaliações da qualidade dos hidroméis produzidos foram feitas através de análises físico-químicas ao final das fermentações. Os hidroméis foram avaliados quanto ao pH, °Brix, acidez total, sulfuroso total (SO<sub>2</sub>), acidez volátil, teor alcoólico (OIV, 2006) e nitrogênio assimilável (Aerny, 1996).

### **Obtenção das bactérias acéticas e elaboração dos vinagres**

As bactérias acéticas foram obtidas por meio da fermentação da mistura de vinagre comercial não pasteurizado de maçã e os hidroméis obtidos das fermentações alcoólicas, obtendo-se assim, os vinagres fortes de méis de *Apis* e *Melipona*. O vinagre vivo de maçã, contendo a mãe do vinagre, foi comprado na empresa Montes Verdes (Registro no MAPA SP – 11098.00001-2). De acordo com a ficha técnica, o produto contém 5% de acidez acética.

As fermentações acéticas ocorreram em barril de carvalho de 5 L pelo processo lento (Processo de Orleans) que, segundo Cerezo, Tesfaye, Torija, Mateo, García-Parrilla & Troncoso (2008), proporciona vinagres de boa qualidade, praticamente limpos, o que dispensa a sua filtração ou clarificação (Figura 1).

Inicialmente, foram misturados 1 L do vinagre forte de maçã com 1 L de hidromel. O hidromel teve o pH ajustado para 5,5 com a adição de carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>), para melhor desempenho das bactérias acéticas. De acordo com Raspor & Goranovic (2008), os valores de pH entre 5,5 e 6,3 são considerados ótimos para a conversão de etanol em ácido acético pelas bactérias. A mistura foi acondicionada no barril durante duas semanas (14 dias) para que se procedesse a fermentação acética. Após isso, a cada semana foi adicionado ao barril 1 L de hidromel e este procedimento ocorreu até que se completasse 2/3 do barril (totalizando três semanas – 21 dias). Durante o processo de fermentação acética foram feitas análises de acompanhamento verificando o teor alcoólico, acidez total e acidez volátil em ácido acético.





**Figura 1.** Vinagreira (barril acetificador) de madeira de carvalho para produção de vinagre pelo processo de Orleans.

Ao término das fermentações acéticas (42 dias), os vinagres de méis foram analisados de acordo com a legislação brasileira (Brasil, 2012), pasteurizados a 65 °C por 20 minutos e armazenados em garrafas plásticas de 1,5 L em temperatura ambiente.

### **Análises físico-químicas e compostos bioativos dos vinagres de méis**

As avaliações da qualidade dos vinagres de méis produzidos foram feitas por meio de análises físico-químicas ao final das fermentações. Os produtos foram avaliados quanto ao pH, teor alcoólico (OIV, 2006), cinzas, extrato seco total, extrato seco reduzido, acidez total, acidez volátil e sulfatos (Brasil, 2012).

A quantificação dos fenóis totais foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu (Ferreira, Aires, Barreira & Estevinho, 2009). A solução padrão do ácido gálico foi utilizada para a obtenção da curva de calibração ( $y = 0,0101x + 0,00377$ ;  $R^2 = 0,9975$ ) e a leitura da absorbância foi realizada a 760nm em espectrofotômetro (FEMTO 700 plus).

O teor de flavonoides totais foi determinado segundo o método descrito por Woisky & Salatino (1998) modificado. Utilizou-se a solução padrão da quercentina para a obtenção da curva de calibração ( $y = 0,0036x + 0,0021$ ;  $R^2 = 0,9998$ ) e as leituras foram feitas em espectrofotômetro (FEMTO 700 plus) a 420nm.

A atividade antioxidante dos hidroméis foi avaliada pelo uso de dois métodos: efeito bloqueador dos radicais livres (DPPH•) descrita por Herald, Gadgil & Tiley (2012) com algumas modificações. Os resultados foram expressos em porcentagem (%) de inibição calculada a partir da equação 1; e poder redutor ( $EC_{50}$ ) descrito por Berker, Güçlü, Tor & Apak (2007) com as leituras feitas em espectrofotômetro (FEMTO 700 plus) a 700nm. O valor da concentração do vinagre que induz a inibição em 50% dos radicais livres ( $EC_{50}$ ) foi calculado a partir do gráfico das absorbâncias medidas em função das concentrações do vinagre com os resultados expressos em miligramas por mililitros ( $mg mL^{-1}$ ).

$$\text{Equação 1: } \% \text{ de inibição} = \left[ 1 - \frac{(A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}})}{A_{\text{controle}} - A_{\text{branco}}} \right] \times 100$$

Sendo:

Aamostra: amostra de mel diluída;

Abranco: metanol e reagente DPPH

Acontrole: metanol

### **Análises estatísticas**

Todas as análises foram realizadas em triplicata ( $n = 3$ ). Em uma primeira abordagem, realizou-se uma análise descritiva para todos os parâmetros físico-químicos, usando médias e desvios padrão, em função do tipo de hidromel e de vinagre de mel.

Posteriormente, os dados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e de Levene para verificação da normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, respectivamente. Para as análises nas quais foram observadas diferenças significativas, utilizou-se o teste complementar de Tuckey ao nível de 5% de significância.

As análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico R (versão 3.3.0) e adotado 5% ( $p < 0,05$ ) como nível de significância. Essas informações

foram comparadas com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira para hidroméis e vinagres de mel.

## Resultados e Discussão

### Caracterização físico-química dos hidroméis

A caracterização físico-química de bebidas fermentadas é fundamental para a determinação de sua identidade e qualidade. Na Tabela 1 estão demonstrados os valores médios encontrados nas análises físico-químicas realizadas nos hidroméis de *A. mellifera* (HA) e *M. fasciculata* (HF).

Os hidroméis obtidos neste trabalho serviram como substratos para as bactérias acéticas e, deste modo, estes fermentados alcoólicos atenderam as necessidades das bactérias do gênero *Acetobacter*, uma vez que estas suportam um teor alcoólico abaixo de 13 °GL (Suman, 2012).

**Tabela 1.** Médias e desvio padrão dos parâmetros físico-químicos avaliados para os dois tipos hidroméis (HA e HF) produzidos a partir de méis de duas espécies de abelhas sociais *A. mellifera* e *M. fasciculata*.

Parâmetros físico-químicos	HA	HF
°Brix	6,00 ± 0,0 a	5,00 ± 0,0 a
pH	3,31 ± 0,0 a	3,31 ± 0,0 a
Açúcares redutores (g L <sup>-1</sup> )	15,13 ± 0,0 a	8,28 ± 0,0 b
Acidez total (g L <sup>-1</sup> ác. tartárico)	3,06 ± 0,1 a	3,10 ± 0,1 a
Nitrogênio assimilável (mg L <sup>-1</sup> )	35,00 ± 0,0 a	28,00 ± 0,0 b
Sulforoso total (mg L <sup>-1</sup> )	28,16 ± 1,5 a	28,16 ± 1,5 a
Teor alcoólico (% v/v)	12,50 ± 0,0 a	12,50 ± 0,0 a
Acidez volátil (g L <sup>-1</sup> ác. acético)	0,32 ± 0,0 a	0,32 ± 0,0 a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Apesar das diferenças estatísticas encontradas nos açúcares redutores e no nitrogênio assimilável, os resultados obtidos estão dentro de uma faixa de variação normal de acordo com a legislação brasileira para produção de hidromel (Brasil, 2008) e os produtos adequados ao consumo humano.

## Fermentações e caracterizações físico-química dos vinagres de méis

Observou-se um aumento progressivo das concentrações de acidez total e volátil (Figura 2) e uma diminuição do teor alcoólico (Figura 3), mostrando o efeito do tempo de fermentação sobre as variáveis.

Ao final de 42 dias foram produzidos fermentados acéticos com acidez volátil de 1,50% (*Melipona*) e 2,50% (*Apis*), estando fora dos padrões de identidade e qualidade de vinagre de mel para a legislação brasileira (Brasil, 2012). Em ambas as fermentações o etanol foi convertido em ácido acético. As análises de teor alcoólico e acidez volátil no vinagre indicam a eficiência da fermentação acética, pois as bactérias utilizam o álcool presente no hidromel como substrato e oxidam em ácido acético.

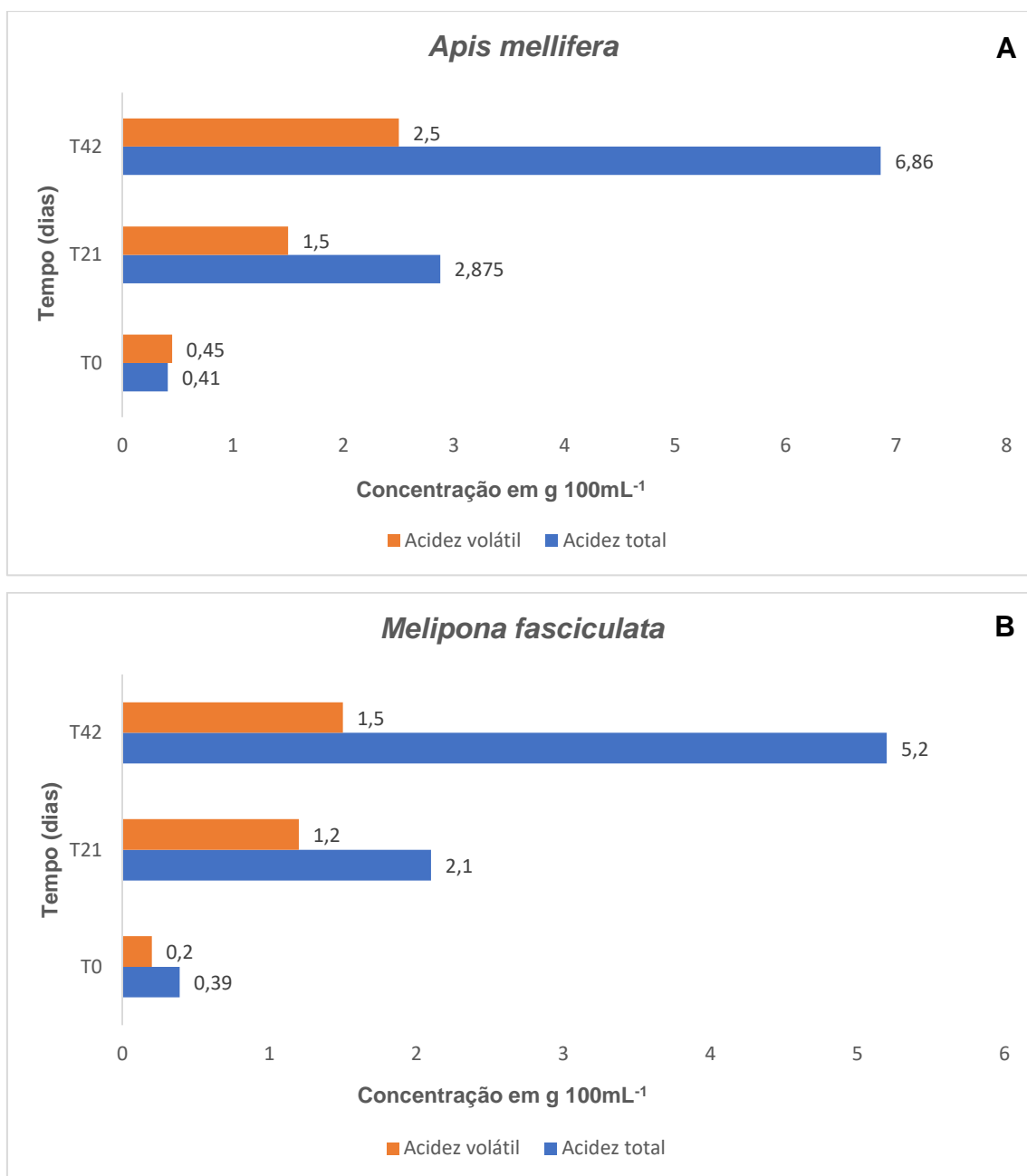
A Tabela 2 apresenta os resultados das análises físico-químicas previstas na legislação brasileira (Brasil, 2012) para identidade e qualidade de vinagre de mel, além dos resultados de parâmetros complementares e dos teores de compostos bioativos das amostras produzidas.

A análise estatística das amostras de vinagre de mel de *A. mellifera* (VA) e mel de *M. fasciculata* (VF) apontaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) para todos os parâmetros, exceto teor de sulfatos e teor alcoólico.

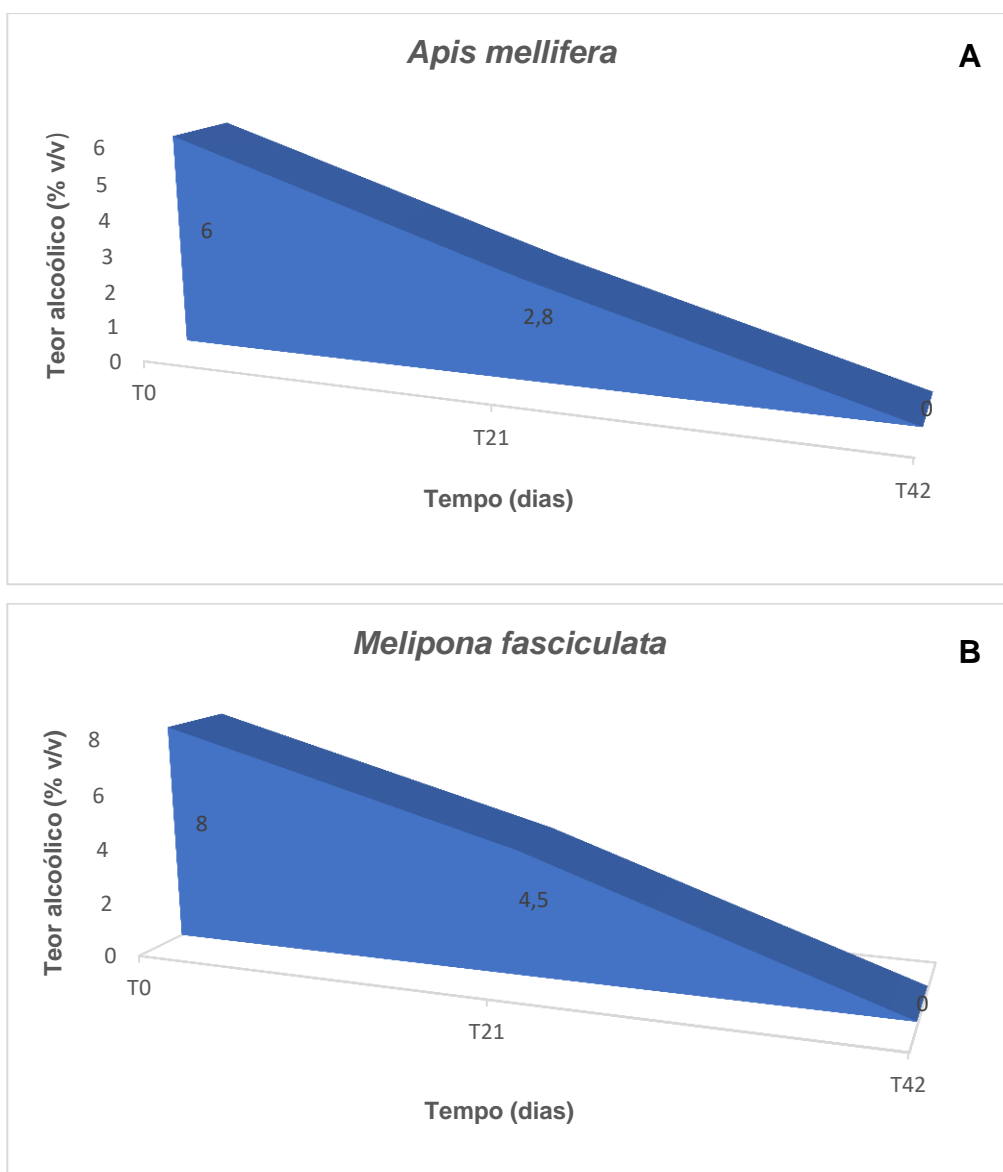
Os resultados das análises físico-químicas estão de acordo com a legislação brasileira (Brasil, 2012) para identidade e qualidade de vinagre de mel, exceto a acidez volátil. Como pode ser observado, os valores de acidez volátil dos vinagres produzidos ficaram muito abaixo do mínimo estipulado por lei (4 g 100 mL<sup>-1</sup> em ácido acético). Este fato pode ser explicado pelo uso da mãe do vinagre, que de acordo com Dias et al. (2016), pode ocasionar a competição entre microrganismos presentes no vinho base, particularmente bactérias acéticas selvagens.

Outra explicação é a perturbação e/ou imersão da mãe do vinagre que acarreta a submersão das bactérias acéticas que deixam de consumir oxigênio e conseqüentemente não acetificam o meio de forma adequada (Martinelli-Filho, 1982). Segundo Suman (2012), o suprimento de oxigênio é um dos fatores que prejudicam a fermentação acética, já que a mesma é dependente do oxigênio para realizar a oxidação. Apesar do barril ter as perfurações anterior e posterior,

acredita-se que não tenha sido suficiente para uma eficiente oxigenação do meio. Ainda assim, ocorreu uma eficiente conversão do hidromel em vinagre de mel, uma vez que praticamente todo o etanol foi consumido e todos os outros parâmetros ficaram de acordo com a legislação.



**Figura 2.** Variações das concentrações de acidez total e acidez volátil em função do tempo para as fermentações acéticas dos hidroméis de *A. mellifera* (A) e *M. fasciculata* (B).



**Figura 3.** Variações das concentrações de teor alcoólico em função do tempo para as fermentações acéticas dos hidroméis de *A. mellifera* (A) e *M. fasciculata* (B).

Além dos fatores citados acima, acredita-se que a acidez volátil não foi atingida conforme a legislação devido ao vinagre forte utilizado não possuir 5% de acidez como dizia no rótulo da embalagem. Dessa forma, a quantidade de bactérias acéticas foi inferior ao esperado para a acetificação do vinagre.

**Tabela 2.** Médias e desvio padrão dos parâmetros físico-químicos avaliados para os dois tipos vinagres de méis (VA e VF) produzidos a partir de méis de duas espécies de abelhas sociais *A. mellifera* e *M. fasciculata*.

Grupos	Análises	VA	VF	Padrões (*)
<b>Legislação*</b>	Extrato seco reduzido (g L <sup>-1</sup> )	15,00 ± 3,83 a	8,00 ± 3,26 b	> 7
	Acidez volátil (g 100mL <sup>-1</sup> )	2,50 ± 0,1 a	1,50 ± 0,3 b	> 4
	Teor alcoólico (°GL)	0,05 ± 0,1 a	0,05 ± 0,1 a	< 1
	Sulfatos (g L <sup>-1</sup> )	0,70 ± 0,1 a	0,70 ± 0,1 a	< 1
	Cinzas (g L <sup>-1</sup> )	4,72 ± 0,2 a	3,03 ± 0,5 b	1,00 – 5,00
<b>Complementares</b>	Extrato seco total (g L <sup>-1</sup> )	39,20 ± 0,5 a	34,93 ± 0,5 b	-
	Acidez total (g 100mL <sup>-1</sup> )	6,86 ± 0,4 a	5,20 ± 0,2 b	-
	pH	2,86 ± 0,4 b	3,35 ± 0,4 a	-
<b>Compostos bioativos</b>	Compostos fenólicos totais (mgEAG Kg <sup>-1</sup> )	254,26 ± 0,3 b	275,10 ± 0,6 a	-
	Flavonoides totais (mgQE Kg <sup>-1</sup> )	14,00 ± 0,2 b	17,26 ± 0,1 a	-
	Atividade antioxidante	45,83 ± 1,1 b	75,95 ± 1,8 a	-
	Efeito bloqueador DPPH (%)			
	Atividade antioxidante	1,44 ± 0,3 a	0,95 ± 0,2 b	-
	Poder redutor (mg mL <sup>-1</sup> )			

Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna, não diferem significativamente entre si (p<0,05). (\*) IN n° 6/2012 do MAPA (BRASIL, 2012).

Quanto às análises complementares, as amostras de vinagres de méis de *Apis* e *Melipona* apresentaram, respectivamente, índices de extrato seco total, acidez total e pH coerentes com os encontrados na literatura. Marques, Spinosa, Fernandes, Castro & Calliari (2010), ao analisarem amostras comerciais de vinagres de frutas, vinho, cana de açúcar e frutas com mel, encontraram valores de extrato seco total variando entre 5,30 e 48,80 g L<sup>-1</sup> e pH entre 2,65 e 3,74. Suman & Leonel (2013) obtiveram vinagres a partir de mandioca e gengibre com as seguintes características respectivamente: extrato seco total de 52 e 112 g L<sup>-1</sup> e acidez total de 5,70 e 4,77 g 100 mL<sup>-1</sup>.

Pereira (2014) elaborou em seu trabalho vinagres de méis de urze e eucalipto e ao final da fermentação obteve valores de pH variando entre 2,92 e 2,97 respectivamente. Anjo (2015), produzindo vinagres de mel de melato, eucalipto e laranjeira encontrou valores de extrato seco total que variaram de 76,53 a 88,74 g L<sup>-1</sup>, acidez total de 1,51 a 6,76 g 100 mL<sup>-1</sup> e pH de 2,37 a 2,60. Isso indica que a produção de vinagre de mel pode ser uma boa opção para absorver o excedente de mel, afim de oferecer novas alternativas para os pequenos produtores de mel na diversificação dos seus produtos.

Em relação às análises de compostos bioativos, pode-se notar que os valores encontrados estão em consonância com os encontrados em outros estudos para vinagre de mel como o de Pereira (2014), que obteve teores de fenóis totais que variaram entre 104 e 281 mgEAG Kg<sup>-1</sup>. Já Anjo (2015) encontrou valores entre 83,26 e 276,54 mgEAG Kg<sup>-1</sup> para fenóis totais e de 66,98 a 78,24% para efeito bloqueador do DPPH. Há um grande interesse em compostos polifenólicos como determinantes de qualidade, porque além de sua atividade antioxidante, também são responsáveis pela cor e adstringência do vinagre (Mas et al., 2014).

Dessa forma, considerando os resultados obtidos para os flavonoides e a atividade antioxidante no presente estudo, o vinagre de *M. fasciculata* foi mais promissor do que o vinagre de *A. mellifera*.



## CONCLUSÃO

Os fermentados acéticos de méis de *A. mellifera* e *M. fasciculata* apresentaram características físico-químicas distintas, principalmente nas análises de compostos bioativos, tendo destaque o vinagre de mel de *Melipona*. A graduação alcoólica final abaixo de 1% indicou que as bactérias acéticas utilizam o etanol presente nos hidroméis como substrato durante o período de fermentação. Os vinagres de méis se apresentaram dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira, exceto no quesito acidez volátil.

## REFERÊNCIAS

Aerny, J. (1996). Composés azotes desmoûts et des vins. *Ver. Suisse Vitic. Arboric Hortic.* 28, 161-165.

Anjo, F. A. (2015). Aplicação de mel de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) de diferentes origens florais na elaboração de fermentados acéticos. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão.

Berker, K. I., Güçlü, K., Tor, I., & Apak, R. (2007). Comparative evaluation of Fe (III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents. *Talanta*, 72(3), 1157-1165.

Brasil, Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (2008). Secretaria de defesa agropecuária. Portaria nº 64, de 23 de abril de 2008. Regulamentos técnicos para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para as bebidas alcoólicas fermentadas: fermentado de fruta, sidra, hidromel, fermentado de cana, fermentado de fruta licoroso, fermentado de fruta composto e saquê. Brasília.

Brasil. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (2009). Decreto nº 6871, de 04 de junho de 2009. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas.

Brasil. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (2012). Instrução Normativa nº 6, de 03 de abril de 2012. Estabelece os padrões de identidade e qualidade e a classificação dos fermentados acéticos.

Budak, N. H., Aykin, E., Seydim, A. C., Greene, A. K., & Guzel-Seydim, Z. B. (2014). Functional properties of vinegar. *Journal of Food Science*, 79(5), 757-764.

Cerezo, A. B., Tesfaye, W., Torija, M., Mateo, E., García-Parrilla, M. C., Troncoso, A. M. (2008). The phenolic composition of red wine vinegar produced in barrels made from different woods. *Food Chemistry*, 109(3), 606-615.

Chou, C. H., Liu, C. W., Yang, D. J., Wu, Y. H. S., & Chen, Y. C. (2015). Amino acid, mineral, and polyphenolic profiles of black vinegar, and its lipid lowering and antioxidant effects in vivo. *Food Chemistry*, 168, 63-69.

De Leonardis, A., Macciola, V., Iorizzo, M., Lombardi, S.J., Lopez, F., & Marconi, E. (2018). Effective assay for olive vinegar production from olive oil mill wastewaters. *Food Chemistry*, 240, 437-440.

Dias, D. R., Silva, M. S., Souza, A. C., Magalhães-Guedes, K. T., Ribeiro, F. S. R., & Schwan, R. F. (2016). Vinegar production from jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) fruit using immobilized acet acid bacteria. *Food Technol. Biotechnol.*, 54(3), 351-359.

Ferreira, I. C. F. R., Aires, E., Barreira, J. C. M., and Estevinho, L. M. (2009). Antioxidant activity of Portuguese honey samples: different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*, 114, 1438-1443.

Herald, T.J.; Gadgil, P.; Tiley, M. (2012). High-throughput micro plate assays for screening flavonoid content and DPPH-scavenging activity in sorghum bran and flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(11), 2326-2331.

Ho, C. W., Lazim, A. M., Fazry, S., Zaki, U. K. H. H., & Lim, S. J. (2017). Varieties, production, composition and health benefits of vinegars: A review. *Food Chemistry*, 221, 1621-1630.

Horiuchi, J.I., Kanno, T., & Kobayashi, M. (2000). Effective onion vinegar production by a two-step fermentation system. *J. Biosci. Bioeng.*, 90, 289-293.

Lee, S., Lee, J. A., Park, G. G., Jang, J. K., & Park, Y. S. (2017). Semi-continuous fermentation of onion vinegar and its functional properties. *Molecules*, 22(8), 1313.

Lu, Z. M., Wang, Z. M., Zhang, X. J., Mao, J., Shi, J. S., & Xu, Z. H. (2018). Microbial ecology of cereal vinegar fermentation: insights for driving the ecosystem function. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 88-93.

Marques, F. P. P., Spinosa, W., Fernandes, K. F., Castro, C. F. S., & Calliari, M. (2010). Padrões de identidade e qualidade de fermentados acéticos de frutas e vegetais. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 30(1), 119-126.

Martinelli-Filho, A. (1982). Tecnologia de vinhos e vinagres de frutas. Piracicaba: Universidade de São Paulo.

Mas, A., Torija, M.J., García-Parrilla, M.C., & Troncoso, A.M. (2014). Acetic acid bacteria and the production and quality of wine vinegar. *Scientific World Journal*, 2014, 1-6.

Organisation International de la Vigne e du Vin. (2006). Recueil dès méthodes internationales d'analyse des vins et des mouts, Paris.

Pereira, A. F. (2014). Otimização da produção de vinagre de mel. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) - Escola Superior Agrária de Bragança. Bragança, Portugal.

R Development core team. R: A language and environment for statistical computing. 2012. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>

Raspor, P., & Goranovic, D. (2008). Biotechnological applications of acetic acid bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28, 101-124.

Suman, P. A. (2012). Processo de obtenção de vinagre de gengibre. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Botucatu.

Suman, P. A. & Leonel, M. (2013). Obtenção de vinagre a partir de mandioca e gengibre. *Energ. Agric.*, 28(1), 52-56.

Ubeda, C., Callejón, R. M., Hidalgo, C., Torija, M. J., Trocoso, A. M., Morales, M. L. (2013). Employment of different processes for the production of strawberry vinegars: effects on antioxidant activity, total phenols and monomeric anthocyanins. *LWT - Food Science and Technology* 52: 139-145.

Valera, M. J., Torija, M. J., Mas, A., Mateo, E. (2015). Acetic acid bacteria from biofilm of strawberry vinegar visualized by microscopy and detected by complementing culture-dependent and culture-independent techniques. *Food Microbiol.*, 46, 452-462.

Woisky, R. G. & Salatino, A. (1998). Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal Apicultural Research* 37(2), 99-105.

Wu, X., Yao, H., Cao, X., Liu, Q., Cao, L., Mu, D., Luo, S., Zheng, Z., Jiang, S., & Li, Z. (2017). Production of vinegar from purple sweet potato in a liquid fermentation process and investigation of its antioxidant activity. *Biotech*, 7, 308.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção de hidromel e vinagre de mel abre uma nova possibilidade de geração de renda para os pequenos apicultores e meliponicultores, que certamente terá um nicho de mercado especializado.

Os méis provenientes do Estado do Piauí, Brasil apresentaram perfis físico-químicos e microbiológicos adequadas ao consumo humano e conseqüentemente à produção de hidromel e vinagre.

A utilização de diferentes tipos e concentrações de nutrientes, além dos diferentes tipos de méis, mostrou diferenças estatísticas significativas na produção dos hidroméis, exceto nos hidroméis de *A. mellifera* 5 (HA5) e de *M. fasciculata* 5 (HM5). Apenas os hidroméis de *A. mellifera* 4 (HA4) e de *M. fasciculata* 4 (HM4) não completaram a fermentação, permanecendo com um maior remanescente de açúcares residuais. Todos os hidroméis produzidos encontraram-se dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira e estão adequados ao consumo humano.

Após análise por um painel de consumidores, verificou-se que, dos quatro tipos de hidroméis produzidos, apenas um, o elaborado a partir de mel de *M. fasciculata* (HF), não foi apreciado em termos organolépticos. O produto com maior grau de aceitação pelos consumidores foi o elaborado a partir do mel de *A. mellifera* 1 (HA1). Os resultados indicam que os tipos de méis de abelhas com e sem ferrão influenciam no perfil sensorial dos hidroméis produzidos.

Os fermentados acéticos de méis de *A. mellifera* e *M. fasciculata* apresentaram-se dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira, exceto no quesito acidez volátil. O vinagre de mel de *Melipona* possui maior teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelo método do efeito bloqueador do DPPH.

Considerando os potenciais desses produtos, é necessário a divulgação das suas características, estimulando assim a produção e o consumo de hidroméis e vinagres elaborados a partir de méis de abelhas sociais com e sem ferrão.