

Estudo da imobilização de *Saccharomyces pastorianus* para produção de hidromel

Study of *Saccharomyces pastorianus* immobilization for hidromel production

RESUMO

Hidromel é uma bebida alcoólica mais conhecida e consumida por países europeus, e é produzida, principalmente de forma caseira, a partir da fermentação a base de mel. O objetivo deste trabalho foi analisar a fermentação com a levedura estando de forma livre no mosto e outra de forma encapsulada em esferas de alginato de sódio, e ainda quanto tempo estas leveduras ficam viáveis a fermentação, utilizando concentrações iniciais similares. Ao final do experimento analisou-se, com base no grau Brix, o quanto cada levedura fermentou em um total de oito soluções, quatro para as leveduras livre e quatro para leveduras encapsuladas, e se notou que a levedura livre apresenta maior eficiência que a encapsulada, mas as duas tem uma queda de velocidade na fermentação a cada ciclo fermentativo, apesar de, na primeira semana a levedura livre apresentar uma queda de fermentação muito maior.

PALAVRAS-CHAVE: Hidromel, Encapsulação, Alginato de Sódio.

ABSTRACT

Mead is an alcoholic drink best known and consumed by European countries, and it is produced, mainly in a homemade way, from fermentation based on honey. The objective of this work was to analyze the fermentation with the yeast being free in the face and another in an encapsulated form in calcium alginate spheres, and also how long these yeasts are viable for fermentation, using similar initial concentrations. At the end of the experiment, it was analyzed, based on the Brix degree, how much each yeast fermented in a total of eight solutions, four for free yeast and four for encapsulated yeast, and it was noticed that the free yeast presents great efficiency than the encapsulated one, but both have a drop in fermentation speed with cycle fermentation, although in the first week free yeast presents a much larger drop in fermentation.

KEYWORDS: Mead, Encapsulation, Sodium alginate.

Ligia Bitencourt

ligia_bitencourt@hotmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil

Sabrina Ávila Rodrigues

sabrinaavila@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil

Recebido: 19 ago. 2020.

Aprovado: 01 out. 2020.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

O mel é um alimento doce, normalmente consumido de forma viscosa ou açucarada dependendo da forma como foi produzido. As abelhas vão as flores em busca do néctar ou secreções procedentes de partes vivas das plantas e até mesmo excreções de insetos que podem ter ficado sobre a mesma, recolhem-nas e, depois de passar por um processo de transformação e combinação com substâncias específicas que transformam o néctar de formas químicas e físicas, será depositado nos favos para maturar (MAPA, 2000).

O néctar é a principal fonte de energia das abelhas composta basicamente de sacarose. Sua composição varia do tipo de solo e do clima, características que podem alterar a cor, acidez, o aroma, a viscosidade e até o tempo que pode demorar para cristalizar o mel (MAPA, 2000).

A fabricação do hidromel, bebida fermentada, é uma das mais variadas utilizações do mel, com amplo conhecimento no continente Europeu. No Brasil, no entanto, esse tipo de bebida não é comumente encontrado, seja pela falta de conhecimento do seu processo de fabricação, seja pela falta de estudos tecnológicos (Embrapa, 2006).

O hidromel é uma bebida alcoólica, tendo na sua composição de 4% a 14% (quatro a quatorze por cento) de volume de álcool, à uma temperatura de vinte graus Celsius, utilizando para a fermentação um mosto a base de mel de abelha e água potável, podendo ainda, ser utilizado nesse processo aditivos para flavorização, que pode mudar o nome especificando cada tipo de aditivo colocado. (DECRETO Nº6.871, 2009)

De acordo com o MAPA (1985), para a fabricação de hidromel deve ser utilizada água potável, e ter uma graduação alcoólica máxima de 14 °GL. Pode ser classificado como seco, licoroso, doce e espumoso, dependendo da forma em que foi fabricado.

Para a fermentação do mel normalmente é utilizado a levedura *Saccharomyces cerevisiae* por se ter mais resistência ao meio alcoólico e alta cinética fermentativa. A levedura fermenta um mosto com basicamente água potável e mel, que podem ter variadas proporções dependendo do tipo de hidromel desejado e, pode se adicionar os aditivos já nessa parte do processo. Depois que o mosto está pronto é recomendado o aquecimento do mesmo com o objetivo de pasteuriza-lo (Embrapa, 2006).

Há algumas formas de se utilizar as leveduras, de forma livre ou encapsulada, recomendando-se colocar 3 a 5% m/v (Gupta e Sharma, 2009), mas não tendo um consenso. O mosto com a levedura fica até se estabilizar o teor de sólidos solúveis em uma estufa a 32 °C. Depois se mantém em refrigeração por mais dias para que se obtenha um depositado que deverá ser extraído para não haver contaminação, pois nesse depositado estão as leveduras.

Matsuo e Steffen (2018) afirmam que o uso de *Saccharomyces* imobilizada em gel de alginato podem contribuir com a qualidade final do hidromel.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do uso de células de *Saccharomyces* livres e encapsuladas aplicadas em processos consecutivos de fermentação para obtenção de hidromel.

MATERIAIS E MÉTODOS

A levedura utilizada foi a *Saccharomyces pastorianus* do Fermentis Salflager W-34/70 fornecida pela Universidade Tecnológica do Paraná Campus Ponta Grossa.

Para a preparação de 100 ml de cultura de levedura foi feito 100 ml de caldo YPD, com 1,001 g de extrato de levedura, 2,003 g de peptona e 2,000 g de sacarose. Esse caldo foi colocado em um Erlenmeyer de 500 ml e foi autoclavado por 20 minutos. Depois de retirado da autoclave e esperado esfriar colocou-se 1,503 g da levedura que ficou 48 horas à uma temperatura de aproximadamente 27,3 °C.

Foi realizado o encapsulamento da levedura em Alginato de Sódio ($\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6$) para a Imobilização Celular da levedura. Se separou 4,002 g de alginato de sódio em um béquer de 250 ml autoclavado, adicionou-se 200 ml de água a 80 ° C, foi homogeneizado com o mixer e deixado esfriar a temperatura ambiente. Após o equilíbrio de temperatura se adicionou 80 ml da levedura a solução (solução 1). Em seguida foi feito uma solução de cloreto de cálcio (CaCl_2) utilizando-se 4,003 g deste sal, dissolvidos em 200 ml de água destilada (solução 2).

Para a encapsulação, foi gotejada a solução de alginato de sódio com a levedura na solução de cloreto de cálcio utilizando-se uma bomba peristáltica e mangueira de silicone, sempre com agitação constante da solução 2, assim gerando cápsulas em forma de esferas, controlando a velocidade em que se gotejava a solução 1.

O mel utilizado para a produção do mosto foi de marca registrada Primel – apiário Franco. Esse mel é produzido no distrito de Itaiacoca, região metropolitana de Ponta Grossa, e é oriunda das flores silvestres dessa região.

Separou-se 250 g deste mel, junto com 500 ml de água mineral foi aquecido até 55 °C, mantendo-se por 10 minutos e depois resfriado em banho maria até atingir 25 °C. Esse mosto foi feito quatro vezes para quatro fermentações diferentes e consecutivas.

No primeiro ciclo fermentativo (Mosto 1) foi feita a inoculação das leveduras livres em uma amostra e encapsuladas em outra amostra. Após decorridos sete dias do processo fermentativo foi realizada a retirada do mosto e as leveduras foram transferidas para o Mosto 2, onde foi realizado o segundo ciclo fermentativo por mais sete dias, onde foi retirado o mosto 2 e repassadas as leveduras para o mosto 3, promovendo assim ciclos sucessivos de fermentação em processo de batelada.

Tabela 1. relação entre os mostos e a massa de mel em cada um.

Mosto	Gramas de mel
Mosto 1	250,495 gramas
Mosto 2	233,103 gramas
Mosto 3	250,825 gramas
Mosto 4	241,380 gramas

Fonte: Autoria Própria (2020)

Os mostos acima citados foram divididos em duas partes iguais, o teor de sólidos foi corrigido com água mineral para cerca de 26 a 28°Brix e colocados nos recipientes onde foi conduzida a fermentação. Antes de se adicionar as leveduras

foi medido o grau Brix de cada mosto e depois medido após 7 dias indicando a porcentagem de açúcar presente em cada solução, utilizando-se refratômetro analógico.

Adicionou-se então 2 ml da cultura de leveduras a uma das garrafas e 100 capsulas de leveduras a outra garrafa, colocou-se o respiro e foram fechadas com fita crepe para evitar contaminação na estufa.

Ficou fermentando na estufa de 32 °C por sete dias, no final de cada período foi retirada as leveduras e passadas para o próximo mosto produzido, as garrafas foram fechadas com tampa e maturando na geladeira por 30 dias e se medido o °brix e o teor alcoólico. Essa etapa foi repetida mais três vezes gerando no final 8 garrafas fermentadas.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Após se colocar a leveduras livres e encapsuladas em cada mosto foi medido o grau Brix (Tabela 2) para a análise de transformação de açúcares em etanol depois dos tempos de fermentação já citados, todos considerados tempos zero de fermentação por não ter tido nenhuma atividade das leveduras ainda.

As diferenças entre os valores do Brix entre os mostos de cada semana foram devido a quantidade de mel utilizado em cada um, e a pequena diferença entre os mostos com a levedura encapsulada e não encapsulada é devido a retirada destas da fermentação anterior, gerando alguma pequena alteração.

Tabela 2. Relação do °Brix de cada mosto antes de começar a fermentação.

Mosto	° Brix (Encapsulado)	° Brix (Livre)
Mosto 1ª semana	28,0º	28,0º
Mosto 2ª semana	27,2º	27,2º
Mosto 3ª semana	27,4º	27,2º
Mosto 4ª semana	26,8º	27,0º

Fonte: autoria própria.

A cada período de sete dias fermentando foi retirado das estufas e medido o grau Brix antes de se fechar as amostras e colocar na geladeira.

Tabela 3. Relação do °Brix de cada mosto passado 7 dias de fermentação.

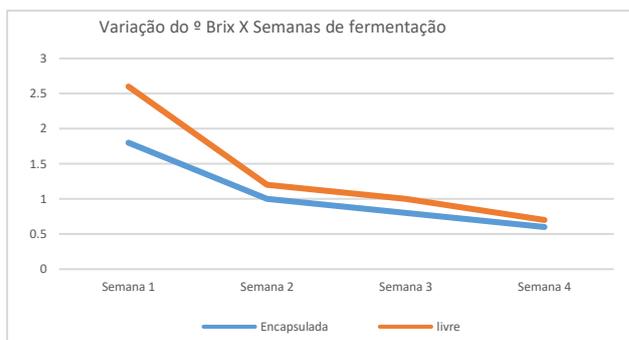
Mosto	° Brix (Encapsulado)	° Brix (Livre)
Mosto 1ª semana	26,2º	25,4º
Mosto 2ª semana	26,2º	26,0º
Mosto 3ª semana	26,6º	26,2º
Mosto 4ª semana	26,2º	26,3º

Fonte: autoria própria.

Pode-se perceber que a fermentação conduzida com as leveduras livres apresentou maior consumo de açúcares, analisando apenas o grau Brix, do que a levedura encapsulada. Essa discrepância pode ser devido ao fato que as leveduras encapsuladas ficaram mais concentradas na rede no topo, somado a encapsulação de alginato que poderia ter criado uma barreira entre a levedura e o mosto, diminuindo o contato com a levedura assim diminuído a fermentação.

Observa-se que tanto a levedura encapsulada como a levedura livre fermentaram os diferentes mostos durante um mês, mas com perdas de velocidade cinética a cada semana que se passou, assim diminuindo a fermentação.

Gráfico 1. Comparação da variação do grau Brix com o tempo



Fonte: autoria própria.

De acordo com o gráfico anterior nota-se claramente que a levedura livre teve uma queda na fermentação maior na primeira semana do que a levedura encapsulada, mas sem ultrapassar a variação da levedura encapsulada com o passar do tempo.

Steffen et. al (2018) utilizando sistema de leveduras imobilizadas em alginato para elaboração de hidromel demonstraram queda de 46,5 % no °Brix após 32 dias de fermentação a temperatura de 9 a 12°C, utilizando a mesma cepa aplicada neste estudo. As amostras analisadas por eles apresentaram diferenças na velocidade do processo fermentativo quando comparadas ao uso de células livres e também nas características físicas e químicas do produto final tais como cor, sabor, presença de gás, sabor alcoólico e aroma.

Já Barreto et al (2019) apontaram que o uso de *Saccharomyces cerevisiae* imobilizada em gel de alginato por 10 ciclos consecutivos de 7 dias de fermentação de suco de maçã para produção de sidra apresentou cinética constante e resultado satisfatório para os produtos finais obtidos.

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram a necessidade da continuidade dos estudos selecionando parâmetros fermentativos que permitam maior eficiência ao processo e, após o ajuste dos parâmetros, a aplicação nos testes de fermentação consecutivas para verificação do número de ciclos fermentativos sucessivos nos quais os microrganismos estudados promovem estabilidade e rendimento satisfatório à fermentação bem como qualidade ao produto final obtido. Estas atividades, apesar de estarem previstas no projeto inicial, foram suspensas em decorrência da pandemia COVID 19 e consequente suspensão das atividades presenciais na UTFPR, devendo serem retomadas tão logo a rotina das atividades presenciais dos alunos da graduação seja normalizada.

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a levedura utilizada no processo fermentativo em análise não apresentou desempenho satisfatório, apresentando baixo índice de conversão de açúcares em etanol e não sendo possível a obtenção do hidromel no sistema utilizando leveduras livres nem naquele utilizando as leveduras imobilizadas.

Em decorrência da pandemia COVID-19 não foi possível dar prosseguimento ao delineamento experimental previsto.

REFERÊNCIAS

- A.B.E.L.H.A. O que é mel? 25 Mar. 2015. Disponível em: <https://abelha.org.br/faq/52-o-que-e-o-mel/> Acesso em: 26 Jun. 2020
- Agricultura, M. D. 20 Out. 2000. Disponível em: http://www.dourados.ms.gov.br/wp-content/uploads/2016/05/RTIQ-Mel-completo-IN-11_2000.pdf Acesso em: 26 Jun. 2020
- ALENCAR, L. H.; ALMEIDA, A. T.; MOTA, C. M. M. Sistemática proposta para seleção de fornecedores em gestão de projetos. *Gestão & Produção*, São Carlos, v. 14, n. 3, p. 477-487, set./dez. 2007. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-Fermento-W-34/70. (s.d) Disponível em: <https://www.indupropil.com.br/fermento-w3470-fermentis.html> Acesso em: 26 Jun. 2020
- MATSUO, Nilson Yugo; STEFFEN, Renato Daher Augusto. Efeito do processo fermentativo na cinética e qualidade de hidromel. 2018. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2018. <http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/10488>. Acesso em 26/08/2020
- Mattietto, Rafaella de Andrade; Lima, Flávia Cristina Carvalho; Venturieri, Giorgio Cristino; Araújo, Álvaro Alberto de. Dez. 2006. *Tecnologia para obtenção artesanal do hidromel do tipo doce*. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/43301/1/Com.tec.170.pdf> Acesso em 04 Ago. 2020
- Ministério da Agricultura, P. e. 25 Jul. 1985. Disponível em: <http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/portaria-6-de-1985-mel.pdf> Acesso em 26 Jun. 2020
- Primel Mel Silvestre. (s.d.). Disponível em: <https://applocal.com.br/empresa/primel-mel-silvestre/ponta-grossa/pr/9615572> Acesso em: 26 Jun. 2020
- República, P. d. *DECRETO Nº 6.871*. 4 Jun 2009. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm Acesso em: 26 Jun. 2020
- STEFFEN, R.D.A. et al. Produção de hidromel com leveduras livres e encapsuladas. Congresso Sulbiotec 2018, p.105. <http://www.sulbiotec.com.br/wp-content/uploads/2018/09/Livro-de-Resumos-SulBiotec.pdf> Acesso em 26/08/2020
- BARRETO, M.F. et al. Fermentação de suco de maçã com microcápsulas de levedura. XXIV Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da UTFPR. Pato Branco PR, 2019. <https://eventos.utfpr.edu.br//sicite/sicite2019/search/authors/view?firstName=MARCELO&middleName=FERREIRA&lastName=BARRETO&affiliation=Universidade%20Tecnol%C3%B3gica%20Federal%20do%20Paran%C3%A1%2C%20Ponta%20Grossa%2C%20Paran%C3%A1%2C%20Brasil&country=BR> Acesso em 26/08/2020