

# BIOTRANSFORMAÇÕES E DESEMPENHO FERMENTATIVO DE HIDROMEL TIPO *METHEGLIN* DE HIBISCO (*Hibiscus sabdariffa*) E LÚPULO (*Humulus lupulus* L.)

## BIOTRANSFORMATIONS AND FERMENTATION PERFORMANCE OF METHEGLIN-TYPE MEAD FROM HIBISCUS (*Hibiscus sabdariffa*) AND HOPS (*Humulus lupulus* L.)

DOI: 10.65747/conali2025v1c10

Rayane Lycia Ferreira Duvale<sup>1</sup>; Isabel Pereira de Carvalho<sup>2</sup>; Laiza de Andrade Santos<sup>3</sup>;  
Camila Cristina da Silva Lopes<sup>4</sup>; Julice Dutra Lopes<sup>5</sup>; Marcelo Barbosa Muniz<sup>6</sup>

<sup>1,4</sup>Doutoranda no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – PPGCTA – CT – UFPB; <sup>2</sup>Mestranda Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – PPGCTA – CT – UFPB; <sup>3</sup>Graduanda do curso de Engenharia Química – CT – UFPB; <sup>5</sup>Docente do Departamento de Engenharia Química – CT – UFPB; <sup>6</sup>Docente do Departamento de Engenharia de Alimentos – CT – UFPB

Contato: [rayanelduvale@gmail.com](mailto:rayanelduvale@gmail.com)

**Resumo:** O mercado de hidromel tem crescido, impulsionando inovações como a adição de frutas e especiarias, incluindo hibisco e lúpulo, que enriquecem o perfil sensorial e funcional. No entanto, esses ingredientes podem interferir na fermentação. Nesse contexto, este estudo avaliou o efeito de diferentes concentrações de *Saccharomyces cerevisiae* nas transformações químicas e parâmetros cinéticos do hidromel com hibisco e lúpulo. Três formulações (0,25; 0,50; 0,75 g/L de levedura) foram fermentadas a 20 °C por 21 dias. A cada três dias analisaram-se pH, acidez, sólidos solúveis totais (SST) e teor alcoólico; açúcares totais (AT) foram medidos no início e fim; e os parâmetros cinéticos foram calculados. Os dados foram tratados por ANOVA e teste de Tukey ( $p>0,05$ ). A cinética de fermentação indicou redução de SST e aumento da acidez e do teor alcoólico ao longo do processo, sem diferença significativa no teor alcoólico final (7,7 °GL). A menor concentração de levedura (H25) gerou maiores teores de AT e SST, maior rendimento de etanol por célula e substrato, maior taxa de consumo de substrato e menor tempo de duplicação celular. H50 e H75 apresentaram menor teor de AT e maior produtividade, com excesso de biomassa em H75 elevando a acidez. Hibisco e lúpulo não comprometeram a viabilidade celular, independentemente da concentração. Concentrações acima de 0,5 g/L não promoveram ganhos expressivos em multiplicação celular, consumo de substrato e produtividade. Os resultados contribuem para otimizar custo, tempo e padronização na produção de hidromel com hibisco e lúpulo.

**Palavras-chave:** biomassa; mosto de mel; parâmetros cinéticos; viabilidade celular.

**Abstract:** The mead market has grown, driving innovations such as the addition of fruits and spices, including hibiscus and hops, which enrich the sensory and functional profile. However, these ingredients can interfere with the fermentation process. Therefore, this study evaluated the effect of different concentrations of *Saccharomyces cerevisiae* on the chemical transformations and kinetic parameters of mead with hibiscus and hops. Three formulations (0.25, 0.50, and 0.75 g/L of yeast) were fermented at 20°C for 21 days. Every three days, pH, acidity, total soluble solids (TSS), and

alcohol content were analyzed; total sugars (TS) were measured at the beginning and end; and kinetic parameters were calculated. Data were analyzed using ANOVA and Tukey's test ( $p > 0.05$ ). Fermentation kinetics indicated a reduction in TSS and an increase in acidity and alcohol content throughout the process, with no significant difference in final alcohol content (7.7 °GL). The lowest yeast concentration (H25) generated higher TA and TSS contents, higher ethanol yield per cell and substrate, higher substrate consumption rate, and shorter cell doubling time. H50 and H75 presented lower TA contents and higher productivity, with excess biomass in H75 increasing acidity. Hibiscus and hops did not compromise cell viability, regardless of concentration. Concentrations above 0.5 g/L did not promote significant gains in cell multiplication, substrate consumption, or productivity. The results contribute to optimizing cost, time, and standardization in the production of mead with hibiscus and hops.

**Keywords:** biomass; cell viability; honey must; kinetic parameters.

## INTRODUÇÃO

O mercado de hidromel tem apresentado crescimento significativo nos últimos anos, impulsionando o aumento da produção e incentivando os produtores a adotarem estratégias inovadoras que agreguem valor e promovam a diversificação do produto (1). Nesse contexto, a utilização de adjuntos fermentativos, como frutas e especiarias, surge como uma alternativa promissora para ampliar o perfil químico e sensorial da bebida (2, 3). No entanto, ainda existem lacunas relevantes no conhecimento e no desenvolvimento tecnológico, especialmente no que diz respeito ao comportamento fermentativo diante da presença de insumos diferenciados. Esses ingredientes, ao enriquecerem o mosto com maior complexidade nutricional, podem alterar significativamente a atividade da levedura e a síntese de metabólitos (4).

Entre as estratégias para aprimorar características químicas do hidromel, destaca-se a utilização de adjuntos como o hibisco (*Hibiscus sabdariffa*) e o lúpulo (*Humulus lupulus L.*), especiarias que dão origem a variação *Metheglin* da bebida. O hibisco, rico em antocianinas, ácidos orgânicos e compostos fenólicos, é responsável por atributos como coloração intensa e acidez marcante. O lúpulo, tradicional na indústria cervejeira, contribui com propriedades aromáticas e amargor equilibrado, além de fornecer compostos bioativos como alfa e beta-ácidos (5, 6). A adição desses ingredientes modifica substancialmente a composição do mosto, tornando o ambiente fermentativo mais complexo e impactando diretamente o metabolismo das leveduras (4, 7).

Embora os benefícios químicos, sensoriais e funcionais da adição do hibisco e lúpulo sejam bem documentados, ainda são escassos os estudos que avaliem os impactos tecnológicos e fermentativos decorrentes dessa prática na produção de hidromel. A maior complexidade nutricional e a presença de compostos potencialmente inibitórios podem interferir na cinética de fermentação, transformações bioquímicas e na estabilidade do processo (4, 3, 8). Esses fatores comprometem a eficiência do processo produtivo, tornando o entendimento das condições fermentativas um ponto-chave para o desenvolvimento de processos mais econômicos e tecnicamente viáveis para os produtores (9).

Dentre os fatores críticos da fermentação alcoólica, destaca-se a concentração de inóculo utilizada. A quantidade de levedura inoculada influencia diretamente a velocidade do processo fermentativo, a formação de compostos voláteis, a produção de subprodutos indesejáveis e o consumo completo dos açúcares presentes no mosto (10). O uso de leveduras do gênero *Saccharomyces cerevisiae*, amplamente reconhecido por sua robustez e eficiência fermentativa, exige ajustes finos na quantidade aplicada, especialmente quando o meio é enriquecido com ingredientes bioativos e não convencionais (11, 12, 3). Um inóculo em baixas concentrações pode comprometer a eficiência do processo (fermentação lenta e incompleta) e a qualidade final da bebida, enquanto um excesso representa desperdício de biomassa e aumento de custos (13, 10).

Dessa forma, compreender os efeitos da variação da concentração de levedura na fermentação de hidroméis elaborados com hibisco e lúpulo é essencial para a otimização do processo, redução de custos e padronização da bebida. Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo desenvolver formulações de hidromel do tipo *Metheglin*, avaliando as alterações físico-químicas, o crescimento e a vitalidade celular das leveduras, bem como os parâmetros cinéticos do processo, sob diferentes concentrações de inóculo. Os resultados visam fornecer subsídios tecnológicos para a produção de hidromel eficiente, padronizada e de alta qualidade.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Material**

Para a elaboração dos hidroméis, foi utilizado mel monofloral de algaroba (*Prosopis juliflora*), produzido por abelhas da espécie *Apis mellifera* e fornecido por apicultores do município de Catolé do Rocha – PB (Latitude: 06°20'38" S; Longitude: 37°44'48" O), localizado na região do semiárido brasileiro. As pétalas secas de hibisco, o lúpulo Citra® em pellets (13,8% de  $\alpha$ -ácidos) e a levedura comercial liofilizada *Saccharomyces cerevisiae* (Fermento Red Star – Premier Côte des Blancs) foram adquiridos no comércio local de João Pessoa – PB (Latitude: 07°06'55" S; Longitude: 34°51'40" O).

### **Processo de obtenção dos hidroméis tipo *Metheglin* de hibisco e lúpulo**

- Obtenção do extrato de hibisco

O extrato de hibisco foi obtido por extração termossonificada, com base no método descrito por Stella *et al.* (14), com adaptações. As pétalas secas foram submetidas a banho ultrassônico (modelo USC-1400, Unique, Brasil) em proporção de 1:50 (massa/volume, hibisco:água), sob frequência de 40kHz, temperatura de 60 °C e tempo de 20 minutos. Após a extração, o extrato foi filtrado com tecido tipo voal e armazenado sob refrigeração, em frascos escuros, até sua utilização.

- Preparo do mosto e formulação

As formulações de hidromel foram desenvolvidas com três tratamentos distintos, variando-se a concentração de levedura, conforme descrito na Tabela 1. Os tratamentos foram codificados como H25, H50 e H75, e inoculados com 0,25, 0,50 e 0,75 g/L de levedura, respectivamente. A avaliação de diferentes concentrações de levedura é fundamental para indicar aos produtores a quantidade de inóculo mais adequada que permita otimizar o processo, a eficiência produtiva e a economia de produção.

Tabela 1 – Formulações experimentais de hidroméis elaborados com hibisco e lúpulo e inoculados com diferentes concentrações de levedura

| Matéria-prima          | Formulações |       |       |
|------------------------|-------------|-------|-------|
|                        | H25         | H50   | H75   |
| Mel (%)                | 19,16       | 19,16 | 19,16 |
| Água mineral (%)       | 56,59       | 56,59 | 56,59 |
| Extrato de hibisco (%) | 24,25       | 24,25 | 24,25 |
| Lúpulo (g/L)           | 1           | 1     | 1     |
| Levedura (g/L)         | 0,25        | 0,50  | 0,75  |

Fonte: Autores, 2025

Para a preparação do mosto, foi utilizado uma proporção de 19,16%, 56,59% e 24,25% de mel, água e extrato de hibisco (p/v/v) (Tabela 1), respectivamente, de modo a alcançar uma concentração de 16 °Brix, verificada por meio de refratômetro de bancada. Esse valor de sólidos solúveis totais representa uma concentração ideal para obtenção de uma bebida alcoólica com teor entre 7% e 9% (v/v), em conformidade com os padrões legais estabelecidos no Brasil (15; 16). A concentração de extrato de hibisco foi definido com base em testes preliminares que indicaram uma coloração intermediária desejável (17). Além disso, a adição de lúpulo foi padronizada em 1 g/L de mosto, conforme proposto por Hrabia et al. (18).

- Fermentação alcoólica, trasfega e envase

A fermentação foi conduzida em batelada, em biorreatores de vidro com capacidade de 3 L, previamente higienizados. Os biorreatores eram dotados de torneira em suas extremidades inferiores que viabilizaram a coleta de amostras em diferentes intervalos de tempo durante a fermentação. A hidratação do inóculo foi realizada por sua dispersão em aproximadamente 200 mL de mosto, sob leve agitação, seguida da adição dessa suspensão ao volume restante no biorreator.

O processo fermentativo foi conduzido a temperatura controlada de  $20 \pm 2$  °C, utilizando-se uma incubadora refrigerada tipo BOD. O término da fermentação foi determinado com base na estabilização dos sólidos solúveis totais (SST) e do teor alcoólico, indicando a ausência de atividade fermentativa significativa.

Concluída a fermentação, os fermentados foram submetidos a uma etapa de clarificação por decantação estática, denominada trasfega, mantidos em repouso por 24 horas a uma temperatura de  $0 \pm 2$  °C. Posteriormente, o sobrenadante foi transferido para novo recipiente, promovendo a separação da biomassa sedimentada. A biomassa final foi coletada e submetida à análise de viabilidade celular. O envase foi realizado em garrafas de vidro âmbar com volume de 300 mL, previamente sanitizadas, vedadas com tampas metálicas tipo coroa e armazenadas sob refrigeração ( $0-5$  °C).

## Métodos

- Crescimento e viabilidade celular

A concentração e a viabilidade celular foram estimadas pelo método de contagem direta em câmara de Neubauer. Para a diferenciação entre células viáveis e inviáveis, utilizou-se o corante azul de metileno (0,01%), preparado pela diluição de 100 mL da solução estoque (0,01 g/L) em solução de citrato de sódio a 2% (p/v), conforme descrito por Pierce (19). Uma alíquota de 0,5 mL da biomassa final diluída foi misturada com 0,5 mL da solução corante, sendo a mistura aplicada na câmara de Neubauer e coberta com lamínula. A contagem das células foi realizada ao microscópio óptico, em quadrantes de 1 mm<sup>2</sup>. A estimativa da concentração celular (células/mL) considerou o número médio de células contadas, o número de quadrantes analisados e o fator de diluição empregado. As contagens celulares foram realizadas a cada 72 horas (3 dias), ao longo de todo o processo fermentativo. A viabilidade celular (%) foi determinada na biomassa final, com base na proporção entre células viáveis e o total de células observadas (20).

- Acompanhamento cinético dos parâmetros físico-químicos

Durante a fermentação alcoólica, foram realizadas análises físico-químicas em triplicata, com coletas em intervalos de 72 horas (3 dias) até o término do processo. Os parâmetros avaliados incluíram pH, sólidos solúveis totais (SST), acidez total titulável e teor alcoólico. Adicionalmente, as concentrações de açúcares redutores (AR) e açúcares totais (AT) foram determinadas no início e ao final da fermentação.

➤ pH: A determinação do pH foi realizada por leitura direta em potenciômetro digital (QUIMIS, modelo Q400AS), devidamente calibrado através das soluções tampões pH 7,0 e 4,0, à 20

°C. As leituras foram efetuadas em alíquotas de 50 mL das amostras, conforme metodologia da AOAC (21).

- Sólidos Solúveis Totais: A quantificação dos sólidos solúveis totais foi realizada por refratometria, utilizando refratômetro de bancada tipo ABBE, de acordo com o procedimento nº 932.12 da AOAC (21), pelo método refratométrico de leitura direta, sendo os resultados expressos em °Brix.
- Acidez: A acidez total foi quantificada através de titulação com NaOH 0,1 M (21), sendo expressa em mEq/L de hidromel. Para isso, 1 mL da amostra foi diluído em 50 mL de água destilada e adicionado de três gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1%. A titulação foi conduzida até o ponto de viragem, identificado pelo aparecimento de coloração rosa claro persistente.
- Teor alcoólico: A determinação do teor alcoólico foi realizada por ebulliometria, com os resultados expressos em graus Gay-Lussac (°GL). O método consistiu inicialmente na calibração do equipamento com água destilada, para obtenção do ponto de ebulição de referência. Em seguida, procedeu-se à leitura da temperatura de ebulição da amostra alcoólica. A concentração de etanol foi estimada por meio de régua de conversão específica, com base na diferença entre os pontos de ebulição da amostra e da água.
- Açúcares redutores e totais (g/L): A quantificação dos açúcares redutores (AR) e totais (AT) foi realizada por espectrofotometria (modelo DU-8200, DRAWELL, China), utilizando o reagente ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), conforme descrito por Miller (22). As amostras foram reagidas com DNS sob aquecimento em banho-maria (100 °C, 5 min), seguidas de resfriamento e leitura da absorbância a 540 nm. Para açúcares totais, as amostras foram previamente hidrolisadas com HCl 1 mol/L e neutralizadas com NaOH 1 mol/L. A quantificação foi realizada por interpolação em curva padrão de glicose, com os resultados expressos em g/L.

- Parâmetros cinéticos

Os parâmetros cinéticos da fermentação foram avaliados com base na produtividade do produto, taxa específica de crescimento celular ( $\mu$ ), tempo de duplicação celular (td) e taxa específica de consumo de substrato (qs). Os coeficientes de conversão considerados incluíram o rendimento do produto em relação ao substrato (YP/S) e o rendimento do produto em relação à biomassa (YP/X). Todos os parâmetros foram calculados conforme as equações apresentadas no Quadro 1, seguindo a metodologia proposta por Maia et al. (9).

Quadro 1 – Equações para o cálculo de parâmetros cinéticos de fermentação

| <b>Equações:</b>  |  |
|---|--|
| $Produtividade (gL^{-1}h^{-1}) = \frac{P_f}{t\ total}$  | $\mu (h^{-1}) = \frac{1}{X_0} \times \frac{X_f - X_0}{t\ total}$ |
| $Y_{p/s} (\%) = \frac{P_f}{S_0 - S}$  | $td (h) = \frac{0.693}{\mu}$                                     |
| $Y_{p/x} (\%) = \frac{P_f}{X - X_0}$  | $qs (h^{-1}) = \frac{1}{X_0} \times \frac{S_0 - S_f}{t\ total}$  |
| Legendas: P <sub>f</sub> : teor alcoólico final (g/L); S <sub>0</sub> : Teor de açúcares inicial (g/L); S <sub>f</sub> : Teor de açúcares final (g/L); X <sub>0</sub> : Biomassa inicial (g/L); X <sub>f</sub> : Biomassa final (g/L); t total: tempo total de fermentação (h). |  |

Fonte: Autores, 2025

## Análise estatística

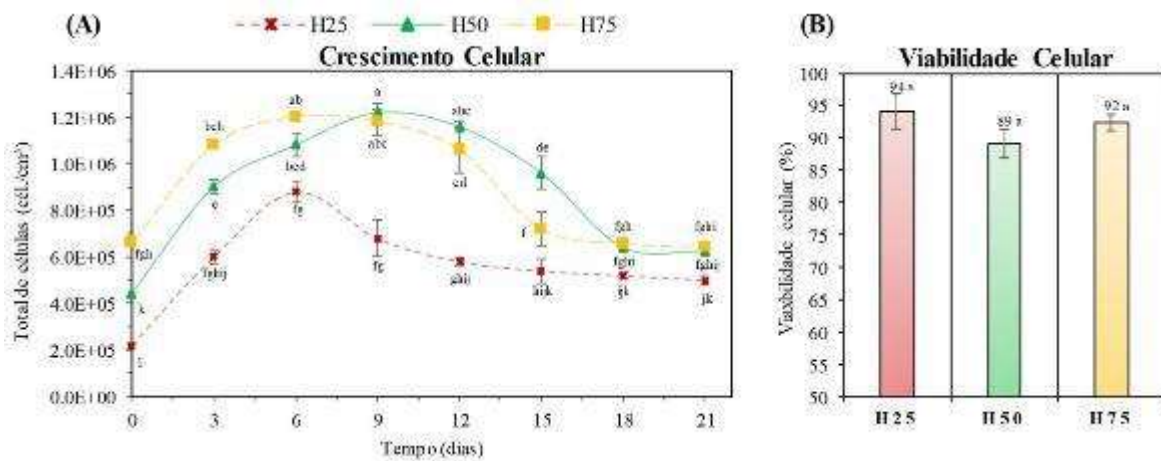
Os dados foram analisados por ANOVA unidirecional, seguida do teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), utilizando o software STATISTICA 7.0. Também foi realizada uma ANOVA bidirecional para avaliar os efeitos da formulação, do tempo de fermentação e da interação entre essas variáveis, com comparações múltiplas conduzidas por meio do teste de Tukey. Os resultados foram representados por gráficos cinéticos e por tabelas contendo as médias  $\pm$  desvio padrão. Diferenças estatisticamente significativas foram indicadas por diferentes letras minúsculas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Crescimento e viabilidade celular

A viabilidade e o crescimento celular são parâmetros essenciais para avaliar a qualidade e o desempenho da fermentação. A Figura 1 apresenta o efeito da concentração de células no mosto de hidromel com adição de hibisco e lúpulo sobre esses indicadores. Os resultados de viabilidade celular (Figura 1B) não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, com uma média de 90,74% de células vivas. Isso sugere que a variação na concentração inicial de leveduras não compromete sua sobrevivência. Considerando que o valor mínimo recomendado para uma fermentação eficiente é de 70% de células viáveis (23), os dados indicam ainda que a presença de hibisco e lúpulo não cria um ambiente inibitório para o metabolismo celular. Dessa forma, os resultados da cinética fermentativa e dos parâmetros associados refletem predominantemente o efeito da quantidade de biomassa inoculada, e não do tipo de adjunto utilizado.

Figura 1 – Crescimento (A) e viabilidade celular (B) das formulações de hidromel H25, H50 e H75



Notas: Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre as variáveis ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey de múltiplos fatores. H25 = hidromel inoculado com 0,25 g/L; H50 = hidromel inoculado com 0,50 g/L; H75 = hidromel inoculado com 0,75 g/L.

Fonte: Autores, 2025.

O crescimento microbiano de *Saccharomyces cerevisiae* ao longo dos 21 dias de fermentação está representado na Figura 3A. Observou-se crescimento contínuo no início da fermentação, com adaptação eficiente das células ao meio. O pico de crescimento ocorreu entre o 6º e o 9º dia, atingindo  $8,8 \times 10^5$  células/cm<sup>3</sup> em H25 e  $1,2 \times 10^6$  células/cm<sup>3</sup> em H50 e H75, aproximadamente o dobro da concentração inicial em todos os tratamentos, resultado semelhante ao reportado por García et al. (24). Após esse período, a biomassa começou a declinar, exceto em H50, cujo decréscimo foi observado apenas após o 9º dia. A estabilização da contagem celular por volta do 18º dia reflete o efeito inibitório do etanol acumulado, típico das fermentações alcoólicas (8).

O tratamento com concentração intermediária de inóculo (H50) apresentou o melhor desempenho, atingindo o pico celular mais elevado e mantendo o crescimento por um período mais prolongado. Esse efeito é particularmente evidente no 15º dia de fermentação, quando a concentração de leveduras foi estatisticamente superior em relação às demais amostras. Além disso, os tratamentos com 0,50 e 0,75 g/L de inóculo encerraram o processo com quantidades finais de biomassa semelhantes, indicando que a adição de levedura acima de 0,5 g/L não promove ganhos expressivos em termos de crescimento celular.

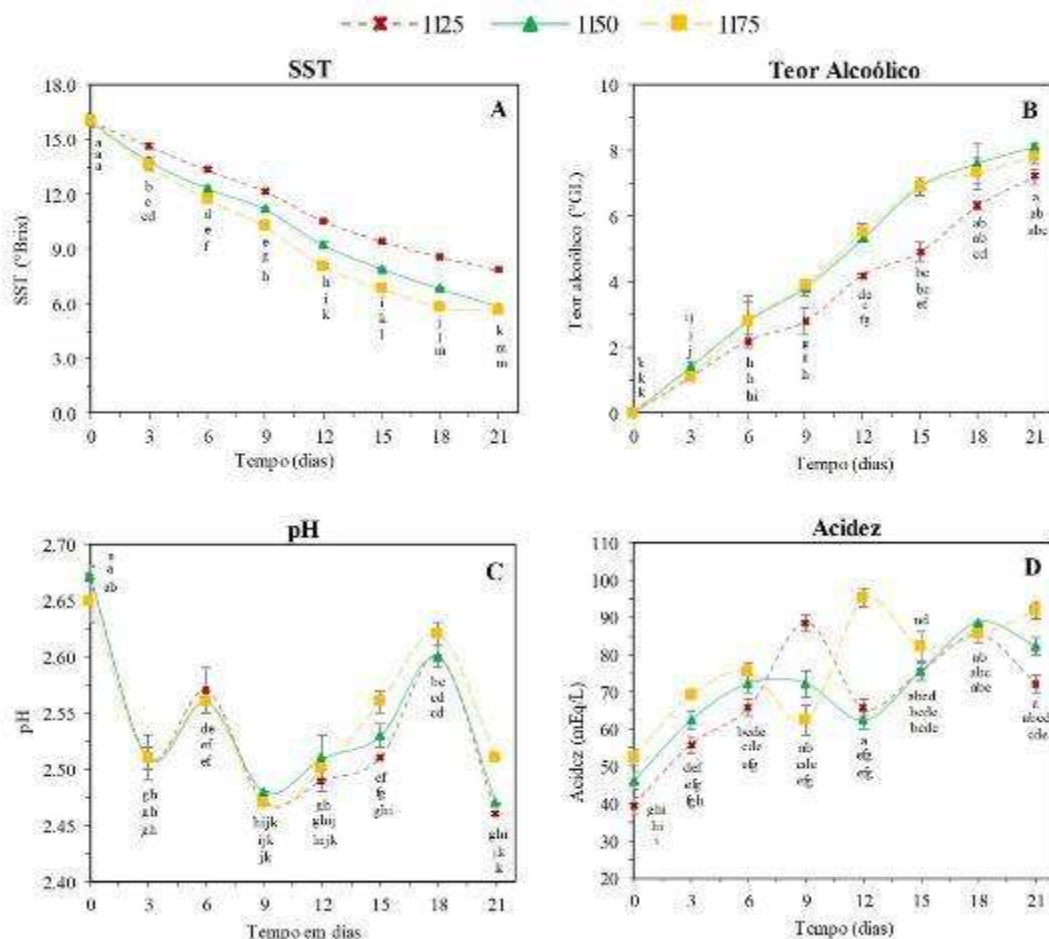
A maior capacidade adaptativa observada no inóculo intermediário pode ser atribuída a um equilíbrio mais eficiente entre a densidade celular e a disponibilidade de nutrientes. Concentrações muito baixas de inóculo (como H25) tendem a limitar a síntese de enzimas essenciais à multiplicação celular, resultando em uma adaptação mais lenta ao meio. Por outro lado, concentrações elevadas (como H75) podem levar ao consumo rápido dos nutrientes disponíveis, promovendo competição precoce e induzindo estresse metabólico (25, 24). Assim, a condição

intermediária parece favorecer um ambiente mais estável para o desenvolvimento celular e para o desempenho fermentativo.

### Cinética de fermentação

As transformações físico-químicas ocorridas ao longo do processo fermentativo estão representadas na Figura 2. A fermentação teve duração total de 21 dias (504 horas), durante os quais foram observadas variações significativas nos parâmetros de sólidos solúveis totais (Figura 2A), teor alcoólico (Figura 2B), pH (Figura 2C) e acidez total titulável (Figura 2D) entre os diferentes tratamentos. Esses resultados indicam que a qualidade físico-química do hidromel é influenciada diretamente pela concentração de inóculo utilizada.

Figura 2 – Variação dos parâmetros de SST (A), teor alcoólico (B), pH (C) e acidez (D) em função do tempo das formulações de hidromel H25, H50 e H75.



Notas: Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre as variáveis ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey de múltiplos fatores. H25 = hidromel inoculado com 0,25 g/L; H50 = hidromel inoculado com 0,50 g/L; H75 = hidromel inoculado com 0,75 g/L.

Fonte: Autores, 2025.

O teor inicial de sólidos solúveis totais (SST) nos mostos foi de 16 °Brix, valor que representa, majoritariamente, a quantidade de substratos solúveis disponíveis para a fermentação. Ao longo de todo o processo fermentativo, observaram-se diferenças estatísticas na redução dos SST entre os tratamentos analisados. De modo geral, a diminuição dos níveis de SST foi proporcional à densidade celular inicial, com maior redução observada no tratamento H75 e menor no H25, enquanto a amostra H50 apresentou um consumo intermediário de açúcares solúveis. No entanto, no 21º dia de fermentação, os teores de SST das formulações H50 e H75 tornaram-se semelhantes, indicando uma possível estabilização do processo fermentativo nesses dois tratamentos.

Ao final da fermentação, o teor de SST residual foi de 7,8 °Brix em H25, enquanto os tratamentos H50 e H75 apresentaram valores médios de 5,7 °Brix, sem diferença significativa entre ambas. Esses dados sugerem que as concentrações de 0,5 g/L e 0,75 g/L de inóculo foram igualmente eficazes na redução dos sólidos solúveis totais ao término da fermentação. Resultados semelhantes foram observados por Da Silva Santos et al. (26), que relataram valores finais de 8,6 °Brix em sua caracterização físico-química do hidromel. A tendência de decréscimo nos valores de SST ao longo da fermentação é esperada, pois reflete o metabolismo fermentativo da levedura, no qual os açúcares (medida indireta) e demais sólidos solúveis são convertidos principalmente em etanol e dióxido de carbono (2).

O teor alcoólico aumentou progressivamente ao longo dos 21 dias de fermentação, atingindo uma média final de 7,7 °GL (v/v), sem diferença estatística significativa entre os tratamentos. Esse resultado indica que, embora o tratamento H25 tenha apresentado maiores níveis residuais de sólidos solúveis totais, foi igualmente eficiente na produção de etanol quando comparado às formulações H50 e H75. Além disso, não foram observadas diferenças no teor alcoólico entre os tratamentos H50 e H75 durante todo o processo fermentativo, sugerindo que concentrações de inóculo superiores a 0,50 g/L não promovem ganhos adicionais na síntese de etanol. Isso aponta para uma ineficiência produtiva associada ao uso excessivo de biomassa, resultando em custos operacionais desnecessários.

O teor alcoólico final observado neste estudo foi inferior aos valores reportados por De Almeida (27), que identificaram 11,06 °GL (v/v) e 11,01 °GL (v/v) em hidroméis elaborados com *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces boulardii*, respectivamente. Essa diferença pode estar relacionada à maior concentração inicial de sólidos solúveis totais (20 °Brix) utilizada por esses autores, que proporcionou maior disponibilidade de substrato para a síntese de etanol.

As variações no pH ao longo do processo fermentativo (Figura 2C) revelaram uma queda acentuada nos primeiros três dias. Esse comportamento é esperado, uma vez que, no início da fermentação, há um aumento na produção de ácidos orgânicos (Figura 2D), os quais contribuem para a acidificação do meio. Entre o 9º e o 18º dia, observou-se uma tendência de elevação dos valores de pH, atingindo uma média de 2,61, sem diferença estatisticamente significativa entre os

tratamentos ( $p < 0,05$ ). O aumento gradual do pH nessa fase pode ser atribuído a mecanismos regulatórios do metabolismo das leveduras, como o consumo de prótons, a liberação de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) durante a descarboxilação do piruvato e a remoção de grupos ácidos do sistema celular (28). Ao final do processo fermentativo, as formulações H25 e H50 apresentaram valores médios de pH inferiores (2,47;  $p < 0,05$ ), enquanto a formulação H75 exibiu pH ligeiramente superior (2,51).

De forma geral, os baixos valores de pH observados são desejáveis, pois contribuem para a inibição do crescimento de microrganismos indesejáveis, favorecendo a estabilidade microbiológica, a conservação e o aumento da vida útil dos hidroméis. Além disso, os valores obtidos neste estudo foram inferiores aos relatados por Amorim et al. (29), que, ao caracterizar hidroméis elaborados com cupuaçu, encontraram pH variando entre 3,81 e 3,85. Essa diferença pode estar associada ao menor potencial hidrogeniônico das matérias-primas utilizadas neste experimento, refletindo um perfil de acidez mais pronunciado.

A acidez total titulável apresentou aumento até o 6º dia de fermentação, seguido por variações entre os tratamentos ao longo do restante do processo. Ao término da fermentação, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre o tratamento H50 e as demais formulações, conforme indicado pelo teste de Tukey. Os valores finais de acidez foram de 72,23 mEq/L para H25, 82,08 mEq/L para H50 e 91,93 mEq/L para H75, todos dentro da faixa considerada adequada para o produto (51–94 mEq/L), conforme descrito por Dantas (30).

Observa-se que a menor concentração de inóculo (0,25 g/L) resultou na menor produção de ácidos orgânicos ao final da fermentação, enquanto a maior concentração (0,75 g/L) promoveu maior acúmulo desses compostos. Esse comportamento reforça a relação direta entre a densidade celular e a intensidade das atividades metabólicas que levam à produção de ácidos. Assim, formulações com maior carga celular ativa tendem a apresentar maior conversão de açúcares em ácidos, elevando a acidez total da bebida.

O aumento da acidez durante a fermentação está associado principalmente à formação de ácidos cítrico, málico e succínico, sintetizados pelas leveduras através do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA). Nessa via metabólica, diversos compostos tamponantes são utilizados como precursores na produção desses ácidos. Além disso, o ácido acético também pode se acumular como subproduto da regulação redox do meio, especialmente em condições de alta concentração de açúcares residuais. Nesse contexto, o excesso de glicose leva ao acúmulo de acetaldeído, que é subsequentemente convertido em ácido acético como mecanismo de ajuste do balanço de cofatores redox (31, 32).

## Consumo de açúcares

Os teores de açúcares redutores (AR) e açúcares totais (AT) no início e ao final da fermentação estão apresentados na Tabela 2. Observa-se que os açúcares foram intensamente consumidos ao longo do processo fermentativo, sendo a principal fonte de carbono para o metabolismo das leveduras. As reduções nos teores de AR e AT foram, respectivamente: 65% e 58% em H25, 89% e 80% em H50, e 85% e 77% em H75. Esse padrão evidencia a elevada atividade fermentativa, especialmente no tratamento H50, indicando que concentrações intermediárias de células favorecem o consumo de açúcares pelas leveduras.

Tabela 2 – Teor de açúcares redutores e açúcares totais no início (dia 0) e final da fermentação (dia 21) das formulações H25, H50 e H75.

| Parâmetros | Tempo de fermentação | Formulações     |                 |                 |
|------------|----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|            |                      | H25             | H50             | H75             |
| AR (g/L)   | 0 (dia)              | 122,23 ± 2,81 b | 132,50 ± 0,69 a | 121,17 ± 1,78 b |
|            | 21 (dia)             | 42,51 ± 2,45 a  | 14,25 ± 0,04 c  | 18,32 ± 1,19 b  |
| AT (g/L)   | 0 (dia)              | 130,11 ± 7,31 b | 152,10 ± 1,52 a | 136,46 ± 2,19 b |
|            | 21 (dia)             | 54,18 ± 1,44 a  | 30,80 ± 0,88 b  | 31,43 ± 0,22 b  |

Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ) entre si pelo teste de Tukey. H25 = hidromel inoculado com 0,25 g/L; H50 = hidromel inoculado com 0,50 g/L; H75 = hidromel inoculado com 0,75 g/L; AR = açúcares redutores; AT = açúcares totais.

Fonte: Autores, 2025

As leveduras demonstraram preferência pelo consumo de AR, como glicose e frutose, que são prontamente assimiláveis. Em contrapartida, a sacarose, principal açúcar não redutor presente no mosto de mel, requer hidrólise enzimática para sua metabolização, apresentando absorção mais lenta (33). Além disso, é bem estabelecido que *Saccharomyces cerevisiae* metaboliza preferencialmente a glicose, seguida da frutose (8).

Ao final dos 21 dias de fermentação, os teores de AT nas formulações H50 e H75 não apresentaram diferenças significativas, comprovando que concentrações de inóculo superiores a 0,50 g/L não promovem ganhos adicionais na conversão de açúcares. A presença de açúcares residuais nas formulações pode estar relacionada à baixa fermentabilidade de certos carboidratos, como a maltose, que requer mecanismo de absorção celular pelas leveduras, visto que a enzima maltase é de origem endógena. Isso dificulta sua metabolização, justificando sua persistência no meio ao final da fermentação (8).

Resultados semelhantes aos deste estudo foram relatados por Vitorino-Junior et al. (8), que encontraram 25,91 g/L de AR em hidromel tradicional após 30 dias de fermentação de um mosto

contendo 141,6 g/L de AT. No presente estudo, a maior concentração de açúcares não redutores ao final da fermentação foi observada em H50 (16,58 g/L), sugerindo maior teor de sacarose residual. Por outro lado, a menor concentração em H25 (11,67 g/L) pode indicar maior hidrólise de sacarose e maltose, possivelmente favorecida pela menor competição por substrato, permitindo maior alocação de energia celular para reações de degradação enzimática (10).

### Parâmetros cinéticos de fermentação

Os parâmetros cinéticos estão apresentados na Tabela 3 e compreendem indicadores cruciais para o entendimento do processo de fermentação. Dentre os tratamentos avaliados, H25 apresentou a maior taxa de crescimento microbiano, com  $\mu = 0,006 \text{ h}^{-1}$ , o que resultou no menor tempo de duplicação celular ( $t_d = 119 \text{ h}$ ) e na maior taxa de consumo de substrato ( $q_s = 0,6 \text{ h}^{-1}$ ). Contrariamente, a formulação H75 apresentou a menor taxa de crescimento específica ( $\mu = 0,004 \text{ h}^{-1}$ ), associada a um tempo de duplicação mais prolongado e a uma menor taxa de consumo de substrato.

Tabela 3 – Parâmetros cinéticos das formulações de hidromel H25, H50 e H75 inoculados com diferentes concentrações de levedura.

| Parâmetros cinéticos             | Formulações     |                 |                 |
|----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                  | H25             | H50             | H75             |
| Produtividade (g/L.h)            | 0,11 ± 0,00 b   | 0,13 ± 0,00 a   | 0,12 ± 0,00 a   |
| $Y_{p/s}$ (g etanol/g substrato) | 0,75 ± 0,03 a   | 0,53 ± 0,01 c   | 0,59 ± 0,01 b   |
| $Y_{p/x}$ (g etanol/g células)   | 77,62 ± 3,08 a  | 50,54 ± 1,08 b  | 37,74 ± 1,37 c  |
| $\mu$ ( $\text{h}^{-1}$ )        | 0,006 a         | 0,005 b         | 0,004 c         |
| $t_d$ (h)                        | 119,28 ± 1,86 c | 138,11 ± 2,18 b | 158,97 ± 2,89 a |
| $q_s$ ( $\text{h}^{-1}$ )        | 0,60 ± 0,01 a   | 0,48 ± 0,00 b   | 0,28 ± 0,00 c   |

Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ) entre si pelo teste de Tukey. H25 = hidromel inoculado com 0,25 g/L; H50 = hidromel inoculado com 0,50 g/L; H75 = hidromel inoculado com 0,75 g/L; Y = coeficientes de rendimento;  $\mu$  = taxa de crescimento microbiano;  $t_d$  = tempo de duplicação celular;  $q_s$  = taxa de consumo de substrato.

Fonte: Autores, 2025

A taxa de crescimento celular e o consumo de substrato apresentaram comportamento inversamente proporcional à concentração de biomassa inoculada nas diferentes formulações. Nesse contexto, o uso de 0,25 g/L de levedura (H25) favoreceu uma conversão mais eficiente de açúcares em etanol, utilizando uma menor quantidade de células para alcançar rendimentos proporcionais aos obtidos nos tratamentos H50 e H75. Esse resultado indica que o hidromel fermentado com menor

densidade celular apresenta maior eficiência metabólica na síntese de etanol. No entanto, apesar dessa maior eficiência relativa, o volume total de etanol produzido e a quantidade de açúcares consumidos foram inferiores aos das formulações com maior concentração de inóculo. Isso se deve ao número reduzido de células no meio, limitado pela inoculação inicial. Como consequência, a cinética fermentativa do tratamento H25 resulta em maior teor residual de açúcares, o que pode conferir ao hidromel um perfil sensorial mais doce e com menor teor alcoólico em comparação aos demais tratamentos.

O rendimento em produto por substrato ( $Y_p/s$ ) e por biomassa ( $Y_p/x$ ) também foi superior no tratamento H25, indicando que uma menor densidade celular promoveu menor competição por substrato e maior eficiência na conversão de açúcares em etanol, mesmo com uma quantidade reduzida de leveduras. Por outro lado, a produtividade volumétrica foi mais elevada nos tratamentos H50 e H75 (média de 0,125 g/Lh;  $p < 0,05$ ), em comparação com a formulação H25 (0,11 g/Lh). Esses resultados indicam que uma concentração mínima de 0,50 g/L de biomassa é suficiente para maximizar a produção de etanol por litro de fermentado em menor tempo. Resultados semelhantes foram observados por Brito (34), que obteve produtividades entre 0,07 e 0,17 g/Lh na produção de hidromel tradicional, utilizando 1,5 g/L de levedura em diferentes estratégias fermentativas (batelada simples e alimentada).

A compreensão dos parâmetros cinéticos é fundamental para otimizar a condução da fermentação alcoólica, permitindo o desenvolvimento de modelos preditivos capazes de simular o comportamento do processo em diferentes condições operacionais (25). Os dados do presente estudo indicam que o aumento da concentração de leveduras na fermentação de hidromel adicionados de hibisco e lúpulo promoveu maior produtividade de etanol (g/Lh), refletindo em uma fermentação mais rápida. No entanto, a formulação H25, com menor densidade celular inicial, demonstrou maior eficiência na conversão de açúcares em etanol e melhor desempenho em termos de crescimento microbiano. Esses achados sugerem que concentrações elevadas de inóculo podem induzir estresse osmótico, reduzindo a capacidade fermentativa das células (9, 35).

Além disso, o uso de concentrações mais elevadas de células na fermentação de bebidas fermentadas também compreendem vantagens adicionais, como sua contribuição para inibir contaminantes indesejáveis, como bactérias. Isso ocorre em virtude da maior competição por nutrientes, o que, por vezes, está associado a fermentações mais robustas. Entretanto, essa condição também pode resultar em desvios metabólicos, com aumento da acidez e menor produção de etanol (Figura 2), uma vez que o excesso de biomassa favorece a canalização da fonte de carbono para a síntese de ácidos orgânicos (32). Portanto, o entendimento desses fatores é essencial para otimizar a produção de hidromel, seja por meio da elevação da produtividade, seja pela adoção de estratégias que favoreçam maior rendimento com menor custo fermentativo.

## CONCLUSÕES

Este estudo evidenciou que a modulação da concentração de inóculo (0,25; 0,50; 0,75 g/L) exerce papel estratégico na dinâmica fermentativa e na qualidade final de hidroméis tipo *Metheglin* elaborados com hibisco e lúpulo. O teor alcoólico final e a vitalidade celular não sofreram influência da concentração de biomassa empregada. Menor densidade de biomassa produziu hidromel com menor nível de acidez, maior teor de açúcares e sólidos solúveis totais e favoreceu uma conversão mais eficiente do substrato em etanol. Por outro lado, concentrações mais elevadas de biomassa promoveu maior produtividade de etanol, refletindo em uma fermentação mais rápida. Os resultados indicam que concentrações acima de 0,5 g/L de levedura não exibem benefícios adicionais nas transformações físico-químicas e no crescimento de células. Assim, esses achados contribuem para o avanço produtivo e oferecem subsídios tecnológicos para otimizar custo, tempo e padronização na produção de hidroméis elaborados com hibisco e lúpulo.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Universidade Federal da Paraíba (UFPB) e ao Laboratório Análises e Pesquisas de Bebidas Alcoólicas (LBA) pelo suporte técnico e infraestrutura disponibilizados. Estendemos nossa gratidão aos coautores e ao corpo docente pelas contribuições científicas e orientações que possibilitaram a realização deste trabalho.

## REFERÊNCIAS

- 1 NAKADA, Jéssica Pestrini; CACIATORI, Lidia Urbano; PANDOLFI, Marcos Alberto Cláudio. Viabilidade da implantação de uma indústria produtora de hidromel. **Revista Interface Tecnológica**, v. 17, n. 1, p. 431-443, 2020.
  - 2 GOMES, Luis Felipe et al. Pitaya melomel: preparation, fermentation kinetics and physical-chemical and volatile characterization. **Food Bioscience**, p. 106703, 2025.
  - 3 STAROWICZ, Małgorzata; GRANVOGL, Michael. Trends in food science & technology an overview of mead production and the physicochemical, toxicological, and sensory characteristics of mead with a special emphasis on flavor. **Trends in food science & Technology**, v. 106, p. 402-416, 2020.
  - 4 BASILIO, Natieli Silva; VIEIRA, Vanessa Amaro. Produção de hidromel: aspectos de qualidade e perspectivas de mercado. **Ciência & Tecnologia**, v. 17, n. 01, p. e17103-e17103, 2025.
  - 5 DUQUE-SOTO, Carmen et al. Bioactive potential of aqueous phenolic extracts of spices for their use in the food industry - a systematic review. *Foods*, v. 12, n. 16, p. 3031, 2023.
- Traditional and present use, and future potential. **Economic botany**, v. 75, n. 3, p. 302-322, 2021.
- 6 KORPELAINEN, Helena; PIETILÄINEN, Maria. Hop (*Humulus lupulus* L.): Traditional and present use, and future potential. **Economic botany**, v. 75, n. 3, p. 302-322, 2021.

- 7 ZHANG, Guoqing et al. Hop bitter acids: Resources, biosynthesis, and applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 105, n. 11, p. 4343-4356, 2021.
- 8 VITORINO-JUNIOR, Jeferson S. et al. Sugar consumption profiles in mead production using accessible control analysis. **Kuwait Journal of Science**, v. 51, n. 2, p. 100204, 2024.
- 9 MAIA, Luanna et al. Unveiling the influence of autochthonous yeasts selected from spontaneous fermentation of cachaça on ethanol, ester and fermentation kinetics. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 118, n. 8, p. 104, 2025.
- 10 WEBSTER, Claire E. et al. Mead production and quality: A review of chemical and sensory mead quality evaluation with a focus on analytical methods. **Food Research International**, p. 115655, 2025.
- 11 AMORIM, Thaise Souza et al. Influence of acerola pulp concentration on mead production by *Saccharomyces cerevisiae* AWRI 796. **LWT**, v. 97, p. 561-569, 2018.
- 12 QUEIROZ, Edinara Lacerda et al. Optimization of the fermentation process for mead production: a review. **Cuadernos de Educación y Desarrollo**, v. 16, n. 1, p. 3103-3133, 2024.
- 13 PEREIRA, Ana Paula et al. High-cell-density fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* for the optimisation of mead production. **Food Microbiology**, v. 33, n. 1, p. 114-123, 2013.
- 14 STELLA, Thainá Rodrigues et al. Hibiscus (*Hibiscus Sabdariffa* L.) extracts freeze-dried and encapsulated by ionic gelation: an approach for yogurt application. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 17, n. 3, p. 2630-2638, 2023.
- 15 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 34, de 29 de novembro de 2012. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade das bebidas fermentadas: fermentado de fruta; fermentado de fruta licorosa; fermentado de fruta composto; sidra; hidromel; fermentado de cana; saquê ou sake. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 23 nov. 2012. Seção 1, p. 3.
- 16 BUNPHAN, Darika et al. Estimation methods and parameter assessment for ethanol yields from total soluble solids of sweet sorghum. **Industrial Crops and Products**, v. 63, p. 349-356, 2015.
- 17 SAVIĆ, Aleksandar et al. Influence of blackberry juice addition on mead fermentation and quality. **Foods and Raw materials**, v. 9, n. 1, p. 146-152, 2021.
- 18 HRABIA, Olga et al. Effect of dry hopping on the oxidative stability of beer. **Food Chemistry**, v. 394, p. 133480, 2022.
- 19 PIERCE, J. S.; ANALYSIS COMMITTEE. Institute of Brewing: Analysis committee measurement of yeast viability. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 76, n. 5, p. 442-443, 1970.
- 20 DA-SILVA, José Renato et al. Mandacaru fruit pulp (*Cereus jamacaru* DC) as an adjunct and its influence on Beer properties. **Food Chemistry**, v. 406, p. 135066, 2023.
- 21 ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis of the AOAC International**. 19th ed. Washington, DC: AOAC International, 2005.
- 22 MILLER, Gail Lorenz. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.
- 23 TESNIÈRE, Catherine et al. Impact of nutrient imbalance on wine alcoholic fermentations: nitrogen excess enhances yeast cell death in lipid-limited must. **PLoS One**, v. 8, n. 4, p. e61645, 2013.

- 24 GARCÍA, Gustavo et al. Kinetic modeling of Mead production. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 82, n. 2, p. 170-178, 2024.
- 25 JOSE-SALAZAR, Jorge Alberto et al. Kinetic Evaluation of the Production of Mead from a Non-Saccharomyces Strain. **Foods**, v. 13, n. 12, p. 1948, 2024.
- 26 DA SILVA SANTOS, Edilaine Alves et al. Desenvolvimento e caracterização físico-química do hidromel. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 6, p. 57775-57787, 2021.
- 27 DE ALMEIDA, Jaqueline Milagres et al. Fermentation monitoring in mead production with the use of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii*. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 11, n. 1, p. 22-28, 2021.
- 28 CYERT, Martha S.; PHILPOTT, Caroline C. Regulation of cation balance in *Saccharomyces cerevisiae*. **Genetics**, v. 193, n. 3, p. 677-713, 2013.
- 29 AMORIM, Leonardo Moraes et al. Elaboração de hidromel de cupuaçu e caracterização físico-química. **Revista Foco**, v. 18, n. 6, p. e9063-e9063, 2025.
- 30 DANTAS, T. M. O. **Avaliação cinética da fermentação alcoólica de mel industrial como substrato para produção de hidromel**. Trabalho de Conclusão de Curso. Curso de Engenharia de Alimentos. Centro de Tecnologia. Universidade Federal da Paraíba, 2016.
- 31 CORREIA-LIMA, Lys et al. Applying beet peels as a brewing adjunct and its impact on flavour formation. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 35, p. 100846, 2024.
- 32 RIBEIRO-FILHO, Normando et al. Influence of essential inorganic elements on flavour formation during yeast fermentation. **Food Chemistry**, v. 361, p. 130025, 2021.
- 33 BASSO, Thiago O. et al. Engineering topology and kinetics of sucrose metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* for improved ethanol yield. **Metabolic engineering**, v. 13, n. 6, p. 694-703, 2011.
- 34 BRITO, A. F. D. S. **Análise cinética e estudos dos parâmetros fermentativos para a produção de hidromel**. Trabalho de conclusão de curso. Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos. Universidade Federal de Campina Grande, 2015.
- 35 PINU, Farhana R. et al. The effect of yeast inoculation methods on the metabolite composition of Sauvignon Blanc wines. **Fermentation**, v. 9, n. 8, p. 759, 2023.