



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXIV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLÓGICA - 2020

Avaliação do consumo de nitrogênio assimilável por *Saccharomyces cerevisiae* Premier Blanc e Premier Cuvée na produção de hidromel

**Adriana Soares Anunciação¹; Geiza Suzart Araújo²; Hevelynn Franco Martins³;
Ernesto Acosta Martinez⁴**

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduando em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: anunciacao.adrianasoares85@gmail.com
2. Coorientadora, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: suzart19@hotmail.com
3. Participante no projeto, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: hevelynn.martins@gmail.com
4. Orientador, DTEC, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: ernesto.amartinez@yahoo.com.br

PALAVRAS-CHAVE: extrato de trigo, *Saccharomyces cerevisiae*, hidromel

INTRODUÇÃO

O mel é uma fonte original de açúcares simples, como glicose e frutose (60-80% do seu peso) que pode ser utilizado para obtenção de diversos produtos, como algumas bebidas (Chagas, 2008), tais como cachaça de mel, poncha (aguardente com mel e suco de limão) e a mais relevante bebida obtida a partir do mel, que é o hidromel. O hidromel é uma bebida fermentada a partir de mel, água e leveduras, cujo teor alcoólico varia entre 4 e 14% (v/v) e pode ser suplementado com ácido cítrico, ervas e especiarias (Ferraz, 2015). O mel possui uma carência de componentes essenciais para um bom processo fermentativo, tais como baixa concentração de proteínas e minerais associadas a um baixo pH. O nitrogênio (N) é um nutriente essencial requerido por todos os organismos vivos, sendo necessário em grandes quantidades, uma vez que é componente essencial de proteínas, ácidos nucleicos e de outros constituintes celulares. É essencial para a levedura durante a fermentação alcoólica estando envolvido na biossíntese de proteínas, aminoácidos, nucleotídeos e outros metabólitos, incluindo compostos voláteis. Alguns estudos têm destacado que a fermentação lenta pode ocorrer em meios carentes de nitrogênio (Gobert *et al.*, 2019). O azoto assimilável é definido como a quantidade de nitrogênio em mg/L disponível e susceptível de ser utilizado pela levedura. A quantidade de azoto assimilável pelas leveduras tem alguns efeitos importantes que dependem uns dos outros, são eles: com a adição de azoto, a multiplicação de células aumenta; na fermentação alcoólica o azoto permite a síntese de proteínas que vão assegurar o transporte dos açúcares até o interior da célula produzindo etanol (Granés *et al.*, 2008). A complementação nitrogenada do mosto, na produção de bebidas alcoólicas, com algumas substâncias nitrogenadas como sulfato de amônio, amônia, ureia, proteína, pequenos peptídeos, bases nitrogenadas ou aminoácidos pode constituir uma prática benéfica para a multiplicação e o desenvolvimento do fermento, aumentando os índices de eficiência, rendimento e produtividade do processo (Pereira, 2007). Segundo Mendes-Ferreira *et al.* (2011), a deficiência de nitrogênio foi reportada como a maior causa de fermentações lentas. O nitrogênio é essencial na síntese de proteínas, ácidos nucleicos e outros componentes celulares influenciando assim o crescimento da levedura, a taxa de fermentação e a duração da fermentação (Bely *et al.*, 1994). Além de influenciar na taxa e tempo de fermentação, a concentração de

nitrogênio também regula a formação de subprodutos, tais como H₂S, ácidos graxos, álcoois superiores e seus ésteres, entre outros, que afetam as propriedades sensoriais das bebidas alcoólicas (Crépin *et al.*, 2012; Mendes-Ferreira *et al.*, 2011; Torrea *et al.*, 2011). De acordo com Pinotti (1991), nas etapas do processo de produção de álcool também existem perdas de nutrientes, como o nitrogênio, o que requer a complementação durante a fermentação, pois a levedura não assimila momentaneamente aquele nutriente, que é geralmente adicionado na forma de uréia ou de sulfato de amônia. Também se refere ao fato de que a reprodução de *Saccharomyces cerevisiae* varia em função do nível de nutrientes encontrados na matéria-prima, e que dentre estes, o nitrogênio é o que apresenta uma resposta significativa. O uso de fontes de nitrogênio de baixo custo tem sido continuamente investigado a partir da substituição de extrato de levedura e peptona, que são mais amplamente utilizados em escala laboratorial (Sridee *et al.* 2011), porém na elaboração de hidromel existem poucos estudos usando matérias-primas naturais e de baixo custo (Araújo *et al.*, 2020). O trigo (*Triticum sp.*) é um produto agrícola comercializado em escala mundial e destinado ao consumo humano e produz o farelo considerado resíduo utilizado apenas para alimentação animal por conter alto teor de nutrientes. O presente trabalho objetiva avaliar o consumo de nitrogênio assimilável disponível no extrato de trigo pelas leveduras *Saccharomyces cerevisiae* Premier Blanc e Premier Cuvée na produção de hidromel.

MATERIAL E MÉTODOS

Matérias primas: O mel foi adquirido de uma cooperativa de apicultores localizada no município de Ribeira do Pombal/BA. O trigo foi obtido sob forma de farelo, comprado na Casa de Rações, localizada na cidade de Conceição do Coité, Bahia.

Obtenção do extrato de trigo: O farelo foi triturado e misturado em água destilada (150 g.L⁻¹) foi aquecida em autoclave (121°C, 30 min), foi centrifugado (centrífuga Excelsa Baby I FANEM), a 1372 x g durante 10 min. e, o sobrenadante foi armazenado em frascos plásticos estéreis e pasteurizado (75°C, 15 min.). Após esse processo, os frascos foram armazenados sob congelamento (-18°C) até o uso na fermentação.

Caracterização físico-química do mel e do extrato de trigo: As análises de teor de sólidos solúveis totais pelo método refratométrico, proteínas pelo método de Kjeldahl, pH em pHmetro digital e acidez total pela determinação de acidez livre, lactônica de acordo com IAL (2008). A concentração de açúcares redutores por espectrofotometria segundo Trevelyan e Harrison (1952).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, estão apresentadas as características físico-químicas do mel e do extrato de trigo. O teor de sólidos solúveis do mel (81,5 °Brix) foi superior aos valores encontrados nas faixas (62,2 – 77,0%) e (61,8 – 76,1), reportadas por Lage *et al.* (2012) e Vale *et al.* (2018). É importante destacar que de acordo com Oliveira, Afonso e Costa (2011), que este parâmetro é utilizado como medida indireta do teor de açúcares. A concentração de açúcares redutores no mel, em sua grande maioria, glicose e frutose, correspondeu a 78,57%. Negruslecu *et al.* (2012) reportaram valores inferiores entre 61,71 e 68,72%. Por outro lado, Sodre *et al.* (2011) relataram concentrações próximas (74,70 a 82,80%). O mel apresentou teor de proteínas (0,51%), valor superior aos reportados (0,12 - 0,37%) por Sodre *et al.* (2011). Assim como os lipídios e minerais, a concentração de proteínas no mel é naturalmente baixa. O pH do mel correspondeu a 3,8, caracterizando, o mel como naturalmente ácido. O valor encontrado está de acordo com a faixa de pH (3,33 – 4,04) de diferentes amostras de méis orgânicos, reportada por Alves *et al.* (2011). Maiores valores de pH (3,8 - 4,6) foram relatados por Rodrigues *et*

al. (2005). A acidez do mel (35,48 meq/Kg) é inferior ao limite máximo estabelecido pela legislação nacional (40 meq/Kg) e a legislação internacional (50 meq/Kg), indicando ausência de fermentação. Finola *et al.* (2007) também relataram a concordância com as legislações dos valores de acidez (11,9 – 29,4 meq/Kg), obtidos em 23 amostras de mel. Nanda *et al.* (2003) reportaram valores superiores de acidez total (30,03 – 47,37 meq/Kg) de diferentes de mel do Norte da Índia. O valor obtido está dentro da faixa (16,9 - 49,2 meq kg⁻¹) relatada por Welke *et al.* (2008), que analisaram 36 amostras de mel. As propriedades físico-químicas, conforme Nanda *et al.* (2003), variam com a origem botânica da planta, com condições climáticas e geográficas.

Tabela 1- Características físico-químicas do mel e do extrato de trigo.

Parâmetros	Mel	Extrato de trigo
Teor de sólidos solúveis totais (°Brix)	81,50 ± 0,06	3,8 ± 0,15
Açúcares redutores (%)	78,57 ± 0,13	1,22 ± 0,1
Proteínas (%)	0,29 ± 0,06	1,8 ± 0,15
pH	3,80 ± 0,00	5,9 ± 0,25
Acidez total titulável (meq/Kg)	27,96 ± 0,51	1,39 ± 0,35

Para os parâmetros determinados para o extrato de trigo (acidez total titulável (1,3 g/100g), açúcares redutores (1,22 g/100g), pH (5,9), sólidos solúveis (3,8 °Brix), compostos fenólicos (627,6 mg.kg⁻¹ de ácido gálico), glúten (1%), nitrogênio assimilável (27,06 mg L⁻¹) não foram reportados valores para comparação. O teor de proteínas totais no extrato de trigo foi de 1,8 g/100g, o MAPA (2005), estabelece 7,5 g/100g de proteínas na farinha de trigo, enquanto a TACO (2011), 9,8 g/100g, entretanto, a diminuição do teor de proteínas pode ser devido à adição de água e também proteínas que ficaram retidas nos grãos

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As matérias-primas possuem características adequadas para seu uso no processo fermentativo. A suplementação do mosto de fermentação é de extrema importância na produção de hidromel já que o mosto carece de nutrientes essenciais, como vitaminas, minerais, e principalmente nitrogênio, comprometendo o desenvolvimento do processo fermentativo e as características organolépticas da bebida. Existem matérias-primas como o trigo que são ricas em compostos nitrogenados podendo ser utilizadas no processo fermentativo diminuindo os custos relacionados com o uso de suplementos comerciais.

REFERÊNCIAS

- ALVES, E.M.; SEREIA, M.J.; TOLEDO, V.A.A.; MARCHINI, L.C.; NEVES, C.A.; TOLEDO, T.C.S.O.A.; ALMEIDA-ANACLETO. Physicochemical characteristics of organic honey samples of africanized honeybees from Parana River islands. *Food Science and Technology*, v. 31, n. 3, 2011.
- ARAÚJO, G. S.; GUTIÉRREZ, M. P.; SAMPAIO, K. F.; SOUZA, S. M. A. de; RODRIGUES, R. de C. L. B.; MARTÍNEZ, E. A. Mead Production by *Saccharomyces cerevisiae* Safbrew T-58 and *Saccharomyces bayanus* (Premier Blanc and Premier Cuvée): Effect of Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) Extract Concentration. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 191, n. 1, p. 212-225, 2020.
- CHAGAS, N.; ROSA, M.; REIS, A.; TORRES, Y.; SANTOS, J.; RIGO, M. *Estudo de Cinética de Fermentação Alcoólica por Células de Saccharomyces cerevisiae em Mel Diluído*, Jul/Dez 2008. Disponível em: <<https://revistas.unicentro.br/index.php/RECEN/article/view/708>>. Acesso em 20 jul. 2020.
- CRÉPIN, L., NIDELET, T., SANCHEZ, I., DEQUIN, S., CAMARASA, C. Sequential use of nitrogen compounds by *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation: a model based on

kinetic and regulation characteristics of nitrogen permeases. *Applied Environment Microbiology*, v. 78, p.8102–8111, 2012.

FERRAZ, F. O. *Estudos dos parâmetros fermentativos, características físico químicas e sensoriais do hidromel*. Tese (Doutorado em Ciências). Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena-SP, 2015.

FINOLA, M.S., LASAGNO, M.C., MARIOLI, J.M. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. *Food Chemistry*, v. 100, n. 4, p.1649-1653, 2007.

GRANÈS, D.; MÈDINA, E.; BLATEYRON, L.; ROMÉRO, C.; BRU, E.; ROUX, C.; BONNEFOND, C.; PIPERNO, A.; ROUANET, M.; OUI, T.; ICV, Montpellier.; France. Alimentação azotada das leveduras. Disponível em <<https://www.infowine.com/en/default.asp>>. *Revista Internet de Viticultura e Encologia*. n.7/2008. Acesso em 03 Ago. 2020.

GOBERT, A.; TOURDOT-MARÉCHALA, R.; SPARROWB, C.; MORGE, C.; ALEXANDREA, H. Influence of nitrogen status in wine alcoholic fermentation, *Food Microbiology*, v. 83, p. 71-85, 2019.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p.1020

MENDES-FERREIRA, A.; COSME, F.; BARBOSA, C.; FALCO, V.; INÊS, A.; MENDES-FAIA, A. Optimization of honey must preparation and alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* for mead production. *International Journal of Food Microbiology*, v. 144, p. 193-198, 2011.

NANDA, V.; SARKAR, B. C.; SHARMA, H. K.; BAWA, A. S. Physico-chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India. *Journal of Food Composition and Analysis*, v.16, p. 613-619, 2003.

NEGRULESCU, A.; PATRULEA, V.; MINCEA, M. M.; IONASCU, C.; VLAD-OROS, B. A.; OSTAFE, V. Adapting the Reducing Sugars Method with Dinitrosalicylic Acid to Microtiter Plates and Microwave Heating. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 23, n. 12, p. 2176-2182, 2012.

OLIVEIRA, V. S.; AFONSO, M. R. A.; COSTA, J. M. C. Caracterização Físico-Química e Comportamento Higroscópico de Sapoti Liofilizado. *Revista Ciência Agronômica*, v. 42, n. 2, p. 342-348, 2011.

PEREIRA, A. F. *Suplementação de nitrogênio sobre a fermentação alcoólica para produção de cachaça, cerveja e vinho*. Dissertação (Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG, 2007.

PINOTTI, R. F. Quantificação do nível de nitrogênio nas etapas do processo de produção de álcool. *STAB*, v. 10, n.1, p.34-35, 1991.

RODRIGUES, A.E.; SILVA, E.M.S.; BESERRA, E.M.F.; RODRIGUES, M.L. Análise físico-química dos méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em duas regiões no Estado da Paraíba. *Ciência Rural*, v35, n.5, p. 1166-1171, 2005.

SRIDEE, W.; LAOPAIBOON, L.; JAISIL, P.; LAOPAIBOON, P. The use of dried spent yeast as a low-cost nitrogen supplement in ethanol fermentation from sweet sorghum juice under very high gravity conditions. *Electronic Journal of Biotechnology*, v. 14, n. 6, p.3-3, 2011.

SÓDRE, G. S.; MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. C. M.; OTSUK, I. P.; CARVALHO, C. A. L. Physico-chemical characteristics of honey produced by *Apis mellifera* in the Picos region, state of Piauí. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 40, n. 8, 2011.

TACO – *Tabela Brasileira de Composição de Alimentos*. 2011. 4. Ed. UNICAMP, Campinas, Brasil.

TORREA, D., VARELA, C., UGLIANO, M., ANCIN-AZPILICUETA, C., LEIGH FRANCIS, I., HENSCHKE, P.A. Comparison of inorganic and organic nitrogen supplementation of grape juice - effect on volatile composition and aroma profile of a Chardonnay wine fermented with *Saccharomyces cerevisiae* yeast. *Food Chemistry*, v. 127, p.1072–1083, 2011.

TREVELYAN, W.E.; HARRISON, T.S. Dosagem de glicídeos totais pelo método de antrona. *Journal Biochemistry*, v. 50, p. 292, 1952.

WELKE, J. E.; REGINATTO, S.; FERREIRA, D.; VICENZI, R.; SOARES, J. M. Caracterização físico-química de méis de *Apis mellifera* L. da região noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. *Ciência Rural*, v. 38, n. 6, 2008.