



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
QUÍMICA

ELABORAÇÃO DE SIDRA PELO MÉTODO *CHAMPENOISE*
UTILIZANDO LEVEDURAS LIVRES E ENCAPSULADAS

CÁSSIA CRISTINA SAVI

FLORIANÓPOLIS - SC
2014.

Cássia Cristina Savi

**ELABORAÇÃO DE SIDRA PELO MÉTODO *CHAMPENOISE*
UTILIZANDO LEVEDURAS LIVRES E ENCAPSULADAS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós – Graduação em Engenharia da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Agenor Furigo Júnior

Coorientador: Prof. Dr. Márcio José Rossi

Florianópolis - SC
2014.

Savi, Cássia Cristina

Elaboração de Sidra pelo Método *Champenoise* Utilizando Leveduras Livres e Encapsuladas / Cássia Cristina Savi; orientador, Agenor Furigo Jr. / coorientador, Márcio José Rossi – Florianópolis, SC.

89 p.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

Inclui Referências

1. Engenharia Química. 2. Maçãs industriais. 3. Sidra de qualidade. 4. Leveduras livres. 5. Leveduras encapsuladas. 6. Metodologia *Champenoise*. I. Furigo Jr. Agenor. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. III. Título.

Cássia Cristina Savi

**ELABORAÇÃO DE SIDRAS PELO MÉTODO *CHAMPENOISE*
UTILIZANDO LEVEDURAS LIVRES E ENCAPSULADAS**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “Mestre em Engenharia Química” e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química e de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 10 de Outubro de 2014.

Prof. Ricardo Antônio Francisco Machado, Dr.
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química

Prof. Agenor Furigo Junior, Dr.
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Márcio José Rosi, Dr.
Coorientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Banca Examinadora:

Prof. Aparecido Lima da Silva, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Estela Nunes Dr^a.
Embrapa Soja

Prof. Jorge Luiz Ninow, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

A Sandra Mendes, por fomentar o projeto e pelo incentivo para que eu ingressasse no mestrado;

Aos professores Agenor Furigo Jr. e Márcio José Rossi pela orientação;

A Epagri-Caçador por fornecer a matéria-prima, em especial o Engenheiro Agr. MSc. Frederico Denardi;

A UNOESC-Campus Videira, a Epagri-Videira e a Vinícola Santa Augusta por disponibilizar os espaços e os materiais necessários para a elaboração das sidras;

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina pela oportunidade de realizar o curso de mestrado;

A CAPES pelo financiamento da bolsa de mestrado e a FAPESC pelo apoio financeiro que permitiu a realização do projeto;

Ao Laboratório Enolab Consultoria e Assessoria Empresarial Ltda., pela realização das análises físico-químicas;

Aos enólogos que se dispuseram a realizar a análise sensorial;

Aos membros da banca, em especial a contribuição da Estela Nunes;

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, meu muito obrigado.

RESUMO

A produção comercial da maçã no Brasil tem pouco mais de 40 anos de tradição e ocupa a décima primeira posição mundial, com uma produção estimada de 1.395.478 toneladas no ano de 2012. A produção brasileira se concentra na Região Sul, sendo o Estado de Santa Catarina responsável por 59% da produção nacional as quais as principais variedades cultivadas são Fuji, Gala e seus clones. As maçãs desclassificadas ao consumo *in natura* apesar de apresentarem tamanho reduzido, formato inadequado e má distribuição de pigmentos, constituem uma matéria prima de qualidade, pois, suas características físico-químicas são idênticas às frutas selecionadas. Devido ao seu baixo valor comercial, há uma demanda para a utilização dessa matéria-prima na fabricação de produtos com maior valor agregado. Nesse contexto, a elaboração de sidra de alta qualidade é uma alternativa bastante interessante. Na Espanha a sidra é muito valorizada e quando produzida pelo método *Champenoise*, é protegida por Denominação de Origem de “Sidra de Astúrias”. A levedura imobilizada é uma alternativa tecnológica que pode ser aplicada para facilitar a operação de “degola” das garrafas e eliminar a etapa de “remuage” reduzindo tempo e custos operacionais. O seu uso na produção de sidra é uma proposta pouco difundida no Brasil. O presente estudo propõe a elaboração de sidras de qualidade, pelo método *Champenoise*, a partir de maçãs industriais das variedades Joaquina, Sansa, Imperial Gala, Fred Hough, Imperatriz, Daiane, Condessa e Fuji. Os mostos das cultivares foram fermentados individualmente e, as respectivas bases divididas para comparação do uso de leveduras livres e imobilizadas (encapsuladas) na segunda fermentação. Foram realizadas análises físico-químicas dos mostos, fermentados base e das sidras. A avaliação sensorial das sidras foi realizada por uma equipe de 10 enólogos. Os resultados indicaram que as maçãs industriais são uma promissora alternativa para elaboração de um produto nobre e de qualidade superior, com destaque sensorial para sidra elaborada pela cv. Joaquina com leveduras encapsuladas. O emprego de leveduras imobilizadas, na segunda fermentação, permitiu eliminar a etapa de “remuage”. Portanto, é uma proposta relevante para o desenvolvimento de estudos futuros. Enfim, este trabalho contribui para a estratégia da bioeconomia, no que se refere ao aumento sustentável da cadeia produtiva da maçã, por meio da agregação de valor a maçã destinada à industrialização.

Palavras-chave: maçãs industriais, sidra de qualidade, leveduras livres, leveduras encapsuladas, metodologia *Champenoise*.

ABSTRACT

The commercial apple production in Brazil has a just over 40 years of tradition and takes the eleventh worldwide position, with an estimated production of 1,395.478 tons in 2012. The Brazilian production is concentrated in the South region, being the State of Santa Catarina responsible for 59% of national production; the main varieties grown are Fuji, Gala and its clones. Unclassified apples to the fresh market constitute a quality raw material, because its physicochemical properties are identical to those selected fruits, although having small size, an inappropriate shape and unequal distribution of pigment. Due to its low commercial value, there is demand for using of this raw material in the manufacture of products with higher added value. In this context, the cider elaboration is a very interesting alternative. For example, in Spain, the cider is highly valued and when produced by the *Champenoise* method, is protected by Denomination of Origin "Asturias Cider" The immobilized yeast is a technological alternative which can be applied to facilitate the operation of "sticking" of the bottle, as well, to eliminate the step of "remuage", with consequent reduction of time and operational costs. Its use in the cider production is not a widespread proposal in Brazil. This study proposes the development of quality ciders, by Champenoise method, from industrial apples of the varieties: Joaquina, Sansa, Imperial Gala, Fred Hough, Imperatriz, Daiane, Condessa and Fuji. The musts of cultivars were fermented individually and, the respective bases were divided to compare the use of free and immobilized yeast (encapsulated) in the second fermentation. Physicochemical analysis of musts, fermented base and ciders were performed. The sensorial evaluation of ciders was conducted by a team of 10 wine experts. The results indicated that the industrial apples are a promising alternative for the elaboration of a noble product of superior quality, with emphasis on sensorial cider cv. Joaquina elaborated with the yeast encapsulated. The use of immobilized yeast in the second fermentation, allowed to eliminate the step of "remuage". Therefore, it is a relevant proposal for the development of future studies. Finally, this work contributes to the bioeconomy strategy, as regards the sustainable increase of the apple productive chain, by adding value to the by-product destined to the industrialization.

Key-words: industrial apple, quality cider, free yeast, encapsulated yeast, *Champenoise* method.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Diferenças entre os processos de elaboração das sidras brasileira e francesa (Nogueira e Wosiacki, 2010).....	33
Figura 2 – Esquema do processo para a preparação de garrafas de vinho espumante pelo método tradicional com leveduras livres em comparação com leveduras encapsuladas (COLAGRANDE et al., 1994, em TORRESI et al., 2011).....	43
Figura 3 – Escala não estruturada de indicação da intensidade do atributo na análise sensorial (DUTCOSKY, 2007).....	50
Figura 4 – Fluxograma do processo de extração dos mostos.....	55
Figura 5 – Fluxograma da obtenção das sidras base.....	56
Figura 6 – Sidras base acondicionadas em freezer (-3 °C) para clarificação e estabilização.....	57
Figura 7 – Borrás formadas durante a clarificação e estabilização (A) e trasfega das sidras base (B).....	57
Figura 8 – Fluxograma do processo da elaboração das sidras.....	58
Figura 9 - <i>Saccharomyces cerevisiae</i> nas formas: (A) encapsulada e (B) livre.....	59
Figura 10 – Vedacões de garrafas: (A) Tampa corona com "bidule"; (B) Rolha de cortiça – aglomerada com disco natural; e (C) Gaiola de arame galvanizado.....	59
Figura 11 - Processo de "remuage" – garrafas no pupitre.....	60
Figura 12 – Acondicionamento das garrafas (invertidas) em caixa.....	60
Figura 13 – Operação de "degorgement" e fechamento das garrafas....	61
Figura 14 – Aparelho Wine Scan TM FT 120.....	63
Figura 15 – Manômetro adaptado com agulha à rolha para verificação da pressão nas garrafas.....	63
Figura 16 – Análise sensorial (painel de avaliadores).....	64
Figura 17 – Ficha utilizada para avaliação sensorial das sidras.....	65
Figura 18 – Correlação entre açúcares redutores totais e densidade dos mostos das maçãs selecionadas.....	69
Figura 19 – Comparativo entre graduação alcoólica (gerada na fermentação) e teórica (cálculo a partir da concentração de açúcares redutores totais presentes no mosto).....	72
Figura 20 - Representação dos valores médios dos descritores sensoriais das sidras elaboradas com as cultivares (A) Joaquina, (B) Daiane, (C) Fred Hough e (D) Imperial Gala. Linhas pontilhadas representam as medias das sidras inoculadas com as leveduras livres; linhas cheias representam as medias das sidras inoculadas com as leveduras encapsuladas.....	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Padrões de identidade e qualidade da sidra em alguns países.	29
Tabela 2- Exemplos de aromas produzidos por microrganismos e seus constituintes químicos.	47
Tabela 3 - Características das cultivares utilizadas.	53
Tabela 4 - Concentração da enzima pectinolítica (ICS10) e Vinoaromax® utilizada no processo de extração do mosto da maçã	54
Tabela 5 - Análises físico-químicas do mosto das cultivares de maçãs selecionadas.....	69
Tabela 6 - Análises físico-químicas das sidras base.....	71
Tabela 7 - Análises físico-químicas das sidras.....	75
Tabela 8 - Teste de proteína das sidras.....	75
Tabela 9 - Análise sensorial das sidras.....	77

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
1.1 OBJETIVOS	21
1.1.1 <i>Objetivo Geral</i>	21
1.1.2 <i>Objetivos Específicos</i>	21
2 REVISÃO DA LITERATURA	23
2.1 MAÇÃ	23
2.2 MICROBIOTA DO MOSTO DA MAÇÃ	26
2.3 SIDRA	27
2.4 PROCESSOS DE ELABORAÇÃO DA SIDRA	30
2.4.1 <i>Etapas da elaboração da sidra</i>	34
2.4.1.1 Extração do Mosto	34
2.4.1.2 Sulfitagem	35
2.4.1.3 Inoculação de Leveduras	36
2.4.1.4 Fermentação alcoólica	37
2.4.1.5 Estabilização pelo frio	38
2.4.1.6 Clarificação	38
2.4.1.7 <i>Trasfega</i>	39
2.4.1.8 Obtenção do gás carbônico pelo método <i>Champenoise</i>	40
2.5 LEVEDURA ENCAPSULADA	42
2.6 COMPOSTOS AROMÁTICOS PRESENTES NA SIDRA	45
2.7 COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES NA SIDRA	47
2.8 ANÁLISE SENSORIAL	49
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	53
3.1 MATÉRIA-PRIMA	53
3.3 ETAPAS DE ELABORAÇÃO DA SIDRA	53
3.3.1 <i>Extração dos Mostos</i>	53
3.3.2 <i>Elaboração da Sidra Base</i>	55
3.3.3 <i>Elaboração da Sidra – Segunda Fermentação</i>	57
3.4 DETERMINAÇÃO ANALÍTICA	61
3.4.1 <i>Amostragem</i>	61
3.4.2 <i>Análises físico-químicas</i>	62
3.4.1 <i>Pressão</i>	63
3.4.2 <i>Teste de Proteína</i>	63
3.5 ANÁLISE SENSORIAL	64
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	64
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
4.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS MOSTOS	67
4.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DAS SIDRAS BASE 70	70
4.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DAS SIDRAS	72

4.4 ANÁLISE SENSORIAL DAS SIDRAS	75
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	81
6 REFERÊNCIAS	83

1 INTRODUÇÃO

A produção de maçã é uma atividade econômica relevante na Região Sul do Brasil, apresentando uma produção de frutos de alta qualidade. De acordo com os autores Paganini et al. (2004) e Carvalho et al. (2010) quando se faz um comparativo com outros países produtores, o Brasil obteve um significativo crescimento ao longo dos últimos 30 anos com a implantação de pomares nos três polos produtores: Vacaria (RS), São Joaquim (SC) e Fraiburgo (SC).

Os pomares comerciais do Sul do Brasil, atualmente em sistema de adensamento de árvores de pequeno porte, são conduzidos de forma a produzir frutas de boa aparência, coloração uniforme, tamanho e formato adequados. Em contrapartida há maçãs que apresentam defeitos fisiológicos, morfológicos e decorrentes de problemas fitossanitários: tamanho pequeno, má distribuição de cor, formas inadequadas, marcas de cicatrizes e injúrias mecânicas. Essas frutas inadequadas para o consumo *in natura* são consideradas “frutas industriais”. Contudo, essas diferem do descarte industrial que compreende ainda as maçãs infectadas por microrganismos, os quais deveriam constituir na verdadeira fração de descarte de produção. As maçãs desclassificadas ao consumo *in natura* proporcionam uma grande vantagem ao setor industrial por constituírem uma parcela significativa em termos de quantidade e qualidade, uma vez que as mesmas mantêm as mesmas características físico-químicas (NOGUEIRA et al., 2006; FERTONANI et al., 2006; OLIVEIRA, 2006; NOGUEIRA et al., 2007; TEIXEIRA et al., 2007; SIMÕES, 2008; CARVALHO et al., 2010; NOGUEIRA e WOSIACKI, 2010).

As macieiras, por serem caracterizadas como espécies alógamas, necessitam de polinização cruzada para garantir a obtenção de boas produções anuais (ALBUQUERQUE Jr. et al., 2010). Essa etapa gera uma produção considerável, mas muitas vezes, rejeitada ao consumo *in natura*. Portanto, as frutas das macieiras polinizadoras são adicionadas às maçãs industriais.

As frutas desclassificadas para o consumo *in natura* mantêm suas propriedades intrínsecas com relação aos indicadores de qualidade como teores de açúcar, de acidez e de compostos fenólicos. Esses frutos podem ser interessantes para o uso industrial, pois em estágios adequados de maturação esses parâmetros independem do tamanho do fruto (SIMÕES, 2008).

A fermentação do suco de maçã é um bioprocesso tão nobre e antigo quanto à obtenção do vinho e da cerveja. Nesse contexto, a sidra elaborada pelo método *Champenoise* surge como uma alternativa promissora para utilização e agregação de valor a essa matéria-prima de qualidade facilmente encontrada em Santa Catarina.

No método *Champenoise*, a segunda fermentação é realizada na mesma garrafa de expedição para o consumo; onde a sidra base é misturada com uma combinação de culturas de leveduras, açúcar e bentonite, seguidos do processo de fermentação e maturação sobre as borras. As leveduras selecionadas para essa etapa devem satisfazer algumas exigências como, por exemplo, serem capazes de fermentar em condições reduzidas (garrafas), na presença de álcool, em baixas temperaturas e sob alta pressão, além de possuírem uma alta capacidade de floculação e não aderirem ao vidro com objetivo de facilitar a sua remoção pela “degola” (VALLES et al., 2008). O uso de leveduras encapsuladas em sidra é uma proposta pouco conhecida no Brasil, mas pode ser uma alternativa para facilitar a operação de degola das garrafas e eliminar a etapa de “remuage”, diminuindo assim o tempo e o custo dessa operação.

No nível brasileiro, o desafio está na elaboração de um produto diferenciado utilizando a mesma matéria-prima, pois a sidra nacional é vista como um produto de baixa qualidade e baixo valor comercial. Tal desvalorização é atribuída principalmente ao processo rudimentar de elaboração e pouca aceitação por parte do consumidor, ambos os fatores observados há alguns anos na produção de vinhos espumantes. No entanto, cabe ressaltar o sucesso do trabalho realizado para a promoção do vinho espumante em função da necessidade de aproveitamento e valorização da matéria-prima e da forte concorrência com produtos importados, como alternativa para impulsionar a indústria vitivinícola.

De modo geral, a definição de uma sidra de qualidade é bastante subjetiva, porém os processos e produtos a serem utilizados na elaboração da sidra poderão proporcionar alguns parâmetros que irão determinar a sua qualidade. Seleção da matéria-prima, metodologia e tecnologias adotadas, utilização de leveduras selecionadas, controle de processos e redução de conservantes podem ser alguns dos pontos que poderão resultar em um produto com qualidade reconhecida.

O presente estudo propõe a elaboração de sidras de qualidade, pelo método *Champenoise*, comparando o uso de leveduras livres com leveduras imobilizadas, visando a valorização de maçãs industriais das variedades Joaquina, Sansa, Imperial Gala, Fred Hough, Imperatriz, Daiane, Condessa e Fuji.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Elaboração de sidras com padrão internacional de qualidade utilizando o método *Champenoise*, visando a agregação de valor às maçãs industriais de diferentes cultivares.

1.1.2 Objetivos Específicos

- a. Produzir fermentados base de maçã das cultivares Joaquina, Sansa, Imperatriz, Imperial Gala, Daiane, Fred Hough, Condessa e Fuji;
- b. Produzir sidras pelo método *Champenoise* utilizando leveduras livres e encapsuladas;
- c. Realizar análises físico-químicas das oito cultivares bem como de seus fermentados;
- d. Realizar análise sensorial das sidras elaboradas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 MAÇÃ

A maçã é um fruto de grande importância comercial para o Brasil, apesar de ter menos de 40 anos de tradição, em 2012 já ocupava a décima primeira posição entre os maiores produtores mundiais¹. A produção brasileira se concentra na Região Sul, sendo o Estado de Santa Catarina responsável por 59% da produção nacional, as principais variedades cultivadas são Fuji, Gala e seus clones (BITTENCOURT e MATTEI, 2008).

Para uma melhor produtividade, a macieira é uma planta que requer polinização cruzada, caracterizando-as como espécie alógama. A finalidade desse sistema é evitar a autofertilização e garantir boa produção anual. A polinização é o evento chave na reprodução da macieira, necessitando assim, do plantio de duas ou mais cultivares no mesmo pomar, com período de floração coincidente. Problemas relacionados à polinização e fecundação podem reduzir tanto a produção quanto a qualidade de frutos, pela diminuição da frutificação efetiva e do número de sementes formadas por fruto (PETRI et al., 2008; ALBUQUERQUE Jr. et al., 2010). A necessidade da polinização cruzada decorre, também, da autoincompatibilidade existente em muitas cultivares de macieira, que limita a autofertilização de flores de uma mesma cultivar, reduzindo a frutificação efetiva (PETRI et al., 2008).

Em contrapartida, de modo geral, a composição do mosto de maçã recebe influencia dos fatores naturais (solo e clima) onde estão implantados os pomares, dos fatores agronômicos de produção da fruta (cultivares, tratos culturais, adubação, tratamento fitossanitários, época de colheita) e da tecnologia de processo, além das condições de armazenamento e atmosfera controlada (RIZZON, BERNARDI e MIELE, 2005; NOGUEIRA, 2007).

A maçã é composta principalmente de água (75 a 90% p/V), sólidos solúveis (açúcares e ácidos orgânicos), substâncias pécnicas, substâncias aromáticas, minerais, compostos nitrogenados e compostos fenólicos (taninos) os quais são importantes para elevarem a qualidade da matéria-prima (HASHIZUME, 2001; RIZZON, BERNARDI e MIELE, 2005; BARBOSA et al., 2007; WOSIACKI e NOGUEIRA, 2005).

¹ <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>

Açúcares: Constituem a maior porção de carboidratos e também os maiores constituintes sólidos solúveis da maçã. Os principais açúcares são frutose (cerca de 6%), a glucose (1,5 a 2,0%) e a sacarose (2,5 a 3,5%), os quais serão fermentados pelas leveduras e convertidos em etanol no processo fermentativo (HASHIZUME, 2001; BARBOSA et al., 2007; NOGUEIRA e WOSIACKI, 2010).

Segundo a classificação de Drilleau (1991), as maçãs são consideradas boas, em relação ao teor total de açúcar, quando apresentam de 130 à 138 g.L⁻¹. No estudo realizado por Carvalho e seus colaboradores (2010), o teor de açúcar redutor total de maçã Gala despectinizada foi de 13,55 g.100 mL⁻¹. Enquanto que no estudo realizado por Simões (2008), a cultivar Gala apresentou 12,86 g.100 mL⁻¹; a cultivar Fuji 13,59 g.100 mL⁻¹; e a cultivar Joaquina 13,12 g.100mL⁻¹. Nos trabalhos realizados por Paganini (2004) com as cultivares Gala, Eva, Rainha, Fred Hough, Imperatriz e Sansa, colhidas durante a safra 2001/02, a determinação de açúcares redutores totais apresentaram um resultado médio de 13,23 g.100mL⁻¹.

Ácidos: O ácido málico presente na fruta é considerado o ácido mais importante da maçã devido a sua expressiva contribuição com a acidez. Ou seja, este ácido é predominante geneticamente e os demais ácidos orgânicos não chegam a atingir o valor correspondente a 5% do total, razão pela qual são usualmente negligenciados (WOSIACKI e NOGUEIRA, 2005; CZELUSNIAK et al., 2003).

Algumas cultivares industriais foram selecionadas por apresentarem elevados teores desse ácido (1,3 g.100mL⁻¹), sendo utilizadas principalmente em misturas, a fim de reduzir o pH do mosto (HASHIZUME, 2001; NOGUEIRA e WOSIACKI, 2010).

Nogueira et al. (2005), avaliaram a trituração e os tratamentos enzimáticos na obtenção de suco de maçã por centrifugação, o teor de acidez, expresso em g.100 mL⁻¹ de ácido málico, variou de 0,06 à 0,20. Entretanto, segundo a literatura esses valores classificam as culturas utilizadas como sendo de baixa acidez (inferior a 0,45 g.100mL⁻¹), características essas de frutas selecionadas e melhoradas para o consumo *in natura*.

Minerais: a maioria é transportada via xilema durante a transpiração da fruta, quando a fruta inicia o estágio de amadurecimento, no entanto, durante a maturação as concentrações de Ca e Mg diminuem. Pouco é conhecido sobre a função precisa, porém sabe-se que alguns minerais,

em baixas concentrações, são constituintes de sistemas enzimáticos (NOGUEIRA et al. 2007a; NOGUEIRA e WOSIACKI, 2010).

Vitaminas: existe uma grande variedade presente na maçã, no entanto a tiamina (grupo B) é considerada a principal no processamento da sidra, apesar de desaparecer rapidamente do mosto no início da fermentação, agindo como um fator de crescimento sobre a multiplicação e atividade celular (NOGUEIRA e WOSIACKI, 2010).

Nitrogênio: sob a forma de α -amina livre, chegando a constituir cerca de 50% do nitrogênio total da fruta e, quando ultrapassa o período de maturação, esse valor tende a diminuir. Entre os aminoácidos presentes a asparagina, a glutamina, o ácido aspártico, o ácido glutâmico e a serina representam de 86 a 95% dos aminoácidos totais. É importante ressaltar que a concentração de nitrogênio total está relacionada com a idade dos pomares, ou seja, quanto mais novos são os pomares, maiores as concentrações de nitrogênio presentes na fruta, e conseqüentemente, quanto mais velhos, menores as concentrações. Essa característica faz com que os compostos nitrogenados quando insuficientes, sejam fatores limitantes para o crescimento das leveduras no processo de produção de sidra, causando lentidão e/ou parada de fermentação. E, em excesso, também pode causar instabilidade microbiológica resultando na explosão de garrafas, no caso da sidra gaseificada naturalmente (HASHIZUME, 2001; BARBOSA et al., 2007; NOGUEIRA e WOSIACKI, 2010; KELKARA e DOLAN, 2012).

Compostos Fenólicos: são também denominados de fenóis totais e seu perfil depende do seu grau de maturação, das condições culturais e do tipo de extração durante a operação de prensagem da maçã. Esses compostos são associados com substâncias amargas e adstringentes, a qual frequentemente é confundida, porque na maioria das maçãs amargas essas substâncias ocorrem conjuntamente. No processamento, a concentração de fenóis pode ser modificada pela reação de escurecimento enzimático devido à ação do sistema enzimático da *polifenol oxidase* e pela formação de precipitados (NOGUEIRA e WOSIACKI, 2010; HASHIZUME, 2001). No entanto, altos teores de compostos fenólicos nas maçãs elevam a qualidade sensorial dos produtos devido à sensação de adstringência proporcionada pelos taninos (SIMÕES, 2008).

Aliado ao fato de que o Brasil apresenta uma considerável produção tanto em termos qualitativos quanto quantitativos, é notório

que a maçã é uma cultura com muitas propriedades interessantes que a torna uma matéria-prima atrativa para a elaboração de bebidas fermentadas.

2.2 MICROBIOTA DO MOSTO DA MAÇÃ

A complexa microbiota natural do mosto da maçã descrita na literatura é representada por linhagens de leveduras como *Saccharomyces cerevisiae* (var. *uvarum*), *Kloeckera apiculata*, *Pichia* spp., *Hansenula* spp., *Torulopsis* spp., *Hanseniaspora valbyensis* e *Metschnikowia pulcherrina*, e por bactérias ácido-láticas tais como *Oenococcus oeni*, *Lactobacillus* spp. ou *Pediococcus* spp., além de algumas bactérias ácido-acéticas (HASHIZUME, 2001).

Estudos preliminares sobre a dinâmica populacional de leveduras têm demonstrado que leveduras do gênero *Saccharomyces* são predominantes durante fermentação alcoólica, enquanto as do gênero não *Saccharomyces*, como *Kloeckera*, *Candida*, *Pichia*, *Hansenula*, *Hanseniaspora* e *Metschnikowia* normalmente crescem durante o primeiro estágio do processo. Por outro lado, vários fatores tais como a localização geográfica, condições climáticas, variedade da maçã e o produto a ser elaborado, bem como o processo empregado, podem influenciar na diversidade das leveduras (VALLES et al., 2007).

Além das leveduras há no mosto de maçã e sidra bactérias que são tolerantes a ácidos tais como *Acetobacter*, *Acetomonas*, *Lactobacillus*, *Leuconosoc*, *Pediococcus* e *Zimomonas* bem como tolerantes a álcool. As bactérias mais frequentemente encontradas são as aeróbias acéticas, representadas pelas espécies *Acetomonas oxudans*, *Acetobacter acetic* e *acetobacter xylinum*. No entanto as bactérias acéticas tendem a desaparecer quando inicia a fermentação alcoólica (HASHIZUME, 2001).

A fermentação natural do mosto de maçã ocorre devido a complexas reações microbianas que envolvem o desenvolvimento sequencial de várias espécies de leveduras e bactérias. Entre esses microrganismos, as leveduras são as principais responsáveis pela fermentação alcoólica. Assim, as diferentes espécies de leveduras desenvolvidas durante a fermentação e sua dinâmica e frequência de aparecimento, determinam o gosto e o sabor dos produtos (VALLES et al., 2007).

Como um resultado do metabolismo fermentativo de leveduras, certos compostos organolépticos são formados e têm um efeito sobre a qualidade da sidra, tais como os álcoois, ésteres e outros voláteis. No

entanto, seleção adequada de matéria-prima e adequados métodos e cuidados de fabricação determinarão as características organolépticas das sidras (ABRODO et al., 2005).

As vantagens e desvantagens de fermentações realizadas por cepas puras de microorganismos e pela microbiota indígena têm sido debatidas desde 1950. Em fermentações espontâneas, uma grande diversidade de microorganismos participa, incluindo leveduras oxidativas e fermentativas, bactérias produtoras de ácido lático e bactérias acéticas. No entanto, acredita-se que o uso de leveduras locais selecionadas são mais competitivas por serem mais bem aclimatadas às condições ambientais, além de garantir o controle adequado da fermentação alcoólica, preservar a contribuição positiva das leveduras indígenas e manter as propriedades sensoriais típicas da região (VALLES et al., 2008). Segundo Abrodo et al. (2005) para a obtenção de sidra na Astúrias, os processos de fermentação alcoólica e malolática são realizados por microbiota selvagem, obtendo produtos de mesma qualidade. Por outro lado, o uso de culturas puras de leveduras, geralmente na forma de levedura seca ativa, fornece uma ferramenta útil para padronizar o produto (VALLES et al., 2008).

2.3 SIDRA

Segundo Barbosa et al. (2007) a fermentação de suco de maçã visando a obtenção de sidra é uma das mais antigas e tradicionais de produção de bebida. Acredita-se que a produção de sidra tem sido praticada no Mediterrâneo Oriental, há mais de 2000 anos.

Bebidas feitas a partir do suco de maçã eram populares entre a população Celta. Na idade média, vários manuscritos referem-se à sidra nas regiões temperadas da Europa onde o cultivo de macieira é possível, como na França, Bélgica, Irlanda, Eslovênia, Alemanha, suíça e norte da Espanha. Termos como “Sikéra” (grego) e “Sicera” (latim) descritos por Plínio no século I (Histoire Naurelle) e por Hipócrates, Prato da Medicina, no século V, relacionados a bebidas fermentadas à base de maçã e pêra, podem ser encontradas, em documentos antigos (NOGUEIRA e WOSIACKI, 2010).

Durante o processo de elaboração da sidra, a maçã deve sofrer uma grande quantidade de transformações bioquímicas cujo controle é fundamental para obtenção de sidra de alta qualidade (ROZA et al., 2003). A qualidade da sidra está, também, relacionada com a escolha adequada da matéria-prima, com as linhagens de leveduras utilizadas para as fermentações, e com o envelhecimento em borras, além dos

tratamentos finais (MADRERA et al., 2008). No entanto, as definições e características de qualidade são diferenciadas e definidas por legislações que variam para cada país. A Tabela 1 descreve algumas das diferenças nos padrões de identidade e qualidade da sidra em alguns países.

Para a Comunidade Econômica Européia (CEE), sidra é a bebida proveniente de fermentação parcial ou total de suco de maçã ou mistura de suco de maçã e pêra, com ou sem adição de água, açúcar ou suco de concentrado de maçã ou pêra (neste caso nunca superior a 25%), estabelecido um mínimo de 4% (V/V) em álcool (HASHIZUME, 2001).

Na América do Norte e na Inglaterra o termo inglês *cider*, se refere ao suco turvo de maçã consumido sem tratamento térmico e o *hard cider* corresponde ao mesmo produto, porém fermentado. O termo *cidre* (França), *sidro* (Itália), *sidra* (Espanha e Brasil), é exclusivamente reservado ao produto fermentado. Na Alemanha, o produto semelhante à sidra pode ser encontrado na região de Trie, sendo conhecido pelo nome de Viez e considerado como um desvio tecnológico do fermentado de maçã “Apfelwein”. Seu valor alcoólico mínimo é de 5% (V/V), não havendo valor máximo, são mais secas e ácidas quando comparadas com as sidras francesas que possuem características suave, adstringente (tânico) e aroma frutado. Por outro lado, na Espanha o produto possui aroma pungente com predominância de ácido acético (HASHIZUME, 2001; NOGUEIRA e WOSIACKI, 2010).

Na Inglaterra, sidra é a bebida obtida por fermentação parcial ou completa, do suco de maçã ou concentrado de maçã, com ou sem a adição, antes da fermentação, de açúcares e água potável e seu valor alcoólico pode chegar a 8% (V/V) (NOGUEIRA e WOSIACKI, 2010).

Na França, a sidra é caracterizada pelo sabor suave, adstringente (tânico) e aroma frutado. Provém exclusivamente da fermentação do suco de maçãs frescas ou de uma mistura de maçãs e peras frescas, extraídas com ou sem adição de água potável. Seu valor alcoólico mínimo é 4% (V/V) não havendo valor máx. Na França, em meados do século XIII, a sidra passou por uma época de nobreza, onde vinhedos foram substituídos por pomares de maçãs devido a condições edafoclimáticas. Atualmente, a região oeste desse país detém a reputação de produzir a melhor sidra disponível no mercado consumidor, caracterizada pelo sabor suave, adstringente (tânico) e aroma frutado. Devido às migrações dos camponeses aos centros urbanos, logo após a Primeira Guerra Mundial (1914 - 1918), a sidra apresentou fases de declínio de produção e consumo. Já na década de 1960, o declínio do consumo de sidra foi influenciado pelo desenvolvimento da produção de cerveja, e hoje, situa-se em terceiro

lugar, estando atrás da cerveja e do vinho (NOGUEIRA e WOSIACKI, 2010).

Tabela 1- Padrões de identidade e qualidade da sidra em alguns países.

CRITÉRIOS	PAÍSES					
	Brasil	França	Alemanha	Inglaterra	Astúrias	União Europeia
Gradação Alcoólica (% V/V)	4 à 8	≥ 4	≥ 5	≤ 8	≥ 5	≥ 4
Adição de Açúcar Fermentescível	Sacarose (≤ a [açúcares da fruta])	Não permite, mas açúcares concentrados podem ser adicionado até 50%	Permitido até densidade máx.= 1055 Kg ^m - ³	Opcional	*	Opcional
Adição de Água	Permitido	Opcional	*	Opcional	*	Opcional
Conservante	Ácido sórbico (0,02%)	Dióxido de enxofre (0,045%)	*	*	Dióxido de enxofre (0,045%)	*
Acidulante	Ácido Cítrico (0,5%)	Ácido cítrico e/ou málico	Lático (máx. 3 g.L ⁻¹)	Málico, cítrico, tartárico, lático	*	*
Matéria-Prima	Maçã; Maçã e Pera (máx. 30%)	Maçãs frescas ou mistura de maçãs e peras frescas	*	Suco de maçã ou suco conc. de maçã	Suco de Maçã	Suco de maçã ou maçã e Pera
Gaseificação	Artificial	Natural ou artificial	*	*	Natural	*
Referências	Brasil, 2009	Nogueira e Wosiacki, 2010.	Nogueira e Wosiacki, 2010.	Nogueira e Wosiacki, 2010.	Nogueira e Wosiacki, 2010.	Hashizume, 2001.

*Valores não informados

No Brasil sidra é a bebida com gradação alcoólica de 4 à 8% (V/V) a 20 °C, obtida pela fermentação alcoólica do mosto de maçã, podendo ser adicionada de suco de pêra, em proporção máxima de 30%, sacarose não superior aos açúcares de fruta e água potável. A legislação brasileira permite a utilização de gás carbônico industrial, conservantes como ácido sórbico (0,02%) e dióxido de enxofre (0,045%) e acidulante como ácido cítrico (0,5%) (BRASIL, 2009). É pouco aromática e com baixa acidez, uma vez que é produzido essencialmente de maçãs de mesa (NOGUEIRA e WOSIACKI, 2010).

Na região europeia a elaboração da sidra é um importante recurso econômico onde há variabilidade de cultivares de maçãs específicas para sidra, o que não ocorre no Brasil, onde esta variabilidade é destinada à mesa. Em Astúrias, a sidra, é uma das bebidas industriais mais importantes. Em abril de 2005 foi protegida pela designação Europeia

de “Sidra de Astúrias”. Essa sidra deve ter graduação alcoólica maior que 5% (V/V), acidez volátil inferior a 2 g.L⁻¹ de ácido acético, dióxido de enxofre total abaixo de 200 mg.L⁻¹ e pressão na garrafa deve ser superior a 3 atm (ABRODO et al., 2005; MADRERA et al., 2008; BLANCO-GOMIS et al., 2009).

O consumidor de bebidas brasileiras está se tornando cada vez mais exigente e, como consequência, o consumo de sidra no Brasil está diminuindo devido a falta de qualidade. A sidra brasileira tem sido elaborada da mesma forma a muitos anos e não vem acompanhando as tendências de mercado. A sidra brasileira é um produto elaboração com adição de água, elevada concentração de açúcar e carbonatada artificialmente, o que a torna um produto sem qualidade e pouco apreciado pelo consumidor. Em contrapartida, as sidras de Astúrias, um importante recurso econômico, são elaboradas apenas com suco de maçã, sua gaseificação é natural, deve apresentar graduação alcoólica superior a 5% (V/V) e pressão na garrafa superior a 3% (V/V).

Para mudar o cenário da sidra brasileira é necessário o desenvolvimento de pesquisas que vão desde a matéria-prima ao produto final. O setor industrial de maçãs possui quantidades significativas de matéria-prima que muitas vezes não recebem a devida valorização. Aliado a isso está o setor de bioprocessos e de tecnologia que vem favorecendo e facilitando a elaboração de bebidas de qualidade. Diante do exposto pode-se perceber que o mercado de bebidas de alta qualidade pode ser ampliado, com a elaboração de uma sidra com um perfil definido.

2.4 PROCESSOS DE ELABORAÇÃO DA SIDRA

A elaboração de sidra é um processo complexo de transformações que ocorrem desde a matéria-prima até o produto final. De modo geral, a elaboração da sidra pode compreender duas etapas. A primeira é a obtenção de uma sidra base, o qual o principal objetivo é fermentar o mosto para converter o açúcar em álcool assim como é feito para a obtenção de vinho. A segunda etapa tem como objetivo a obtenção do gás carbônico dissolvido, responsável pelo “perlage” presente no produto. Essa etapa de obtenção do gás carbônico pode ser realizada por gaseificação artificial (carbonatação) ou por gaseificação natural (método *Charmat* ou método *Champenoise*).

A carbonatação é o processo que se acrescenta gás carbônico na sidra base, no momento do engarrafamento, da mesma forma que se acrescenta na água, o que faz com que o produto obtido fique com pouca

qualidade, já que a perda do gás ocorre com maior facilidade (LONA, 1997).

O método *Charmat* foi desenvolvido com objetivo de aumentar a produtividade de vinho espumante para atender a demanda. Ao contrário da carbonatação, a aquisição do gás carbônico ocorre naturalmente através de uma segunda fermentação em reatores de aço inoxidável resistentes a pressão, também chamados de autoclaves. A sidra base é transferida para autoclave, com adição de açúcar suficiente para se obter 6 atm de pressão ($20-24 \text{ g.L}^{-1}$) e leveduras para desenvolver a refermentação, que pode durar de alguns dias a alguns meses, dependendo do produto que pretende-se obter. Durante este período as leveduras transformam o açúcar em álcool e gás carbônico (CO_2). Como não há liberação deste gás, ele permanece no produto, formando as borbulhas ou “perlage” no momento em que é servido. Terminada a refermentação a sidra é refrigerada, clarificada, filtrada em filtro esterilizante, visando evitar eventuais refermentações, e engarrafado isobaricamente (CARVALHO, 2010). Durante esse processo ocorre uma perda de 1 a 1,5 atm de pressão. Essa perda varia em função da temperatura de envase do produto, ou seja, quanto maior a temperatura que se trabalha, maior será a perda de pressão, pois com temperaturas mais elevadas o produto tende a formar mais espuma, o que faz com que ocorra maior liberação do gás carbônico dissolvido no líquido.

O método *Champenoise*, também conhecido como método tradicional, caracterizado pela segunda fermentação ocorrendo em garrafas, será abordado com maior ênfase no item que fala sobre as etapas de elaboração da sidra.

Cada uma destas metodologias possui uma particularidade que influenciará na obtenção do produto que se deseja. A qualidade das sidras também está relacionada com a matéria-prima, leveduras utilizadas para as fermentações, tratamentos finais, bem como tempo de envelhecimento do produto sobre as borras. Durante o processo de autólise, as leveduras liberam diferentes compostos no meio extracelular como polissacarídeos, frações de nitrogênio e compostos aromáticos que melhoram as características sensoriais do produto final (MADRERA et al., 2008).

Desde 1970 a sidra tem sido elaborada da mesma forma, momento em que foi aperfeiçoada para ser semelhante ao vinho branco frisante ou espumante. Para isso eliminou-se a cor formada pelo escurecimento enzimático com a adição metabissulfito de potássio durante a trituração (CARVALHO et al., 2010).

Conforme descrito por Nogueira e Wosiacki (2010), as frutas industriais são selecionadas, lavadas com água por aspersão ou imersão e, posteriormente são trituradas. Em seguida, é realizada a operação de prensagem em prensas de pistão ou esteira, o suco obtido é beneficiado com a adição de enzimas pectolíticas além de receber a primeira sulfitação. Na sequência, o mosto é trasfegado e o bagaço encaminhado para nova prensagem, usualmente em filtros prensa. No final desse processo, o bagaço contém uma grande quantidade de açúcar que pode ser extraído com adição de água. Essa prática, chamada “difusão”, é realizada em ocasiões nas quais a produção de maçã foi baixa. Dessa forma, pode-se obter 3 tipos de mosto para a elaboração da sidra: aquele constituído de suco puro, o suco de difusão e a mistura dos dois. Definida a obtenção do mosto, inicia-se a etapa de fermentação alcoólica que ocorre em dornas metálicas à temperatura ambiente, após receber o inóculo sob a forma de levedura seca ativa (LSA). Com o término da fermentação, o fermentado é filtrado e transferido para outro tanque, o qual permanece por um período de maturação. Ao final, adiciona-se 75 a 100 g.L⁻¹ de sacarose e se necessário a acidez é corrigida com adição de ácido láctico, ou cítrico. Para garantir conservação ao produto são adicionados SO₂ e sorbato de potássio nas concentrações permitida pela legislação. O produto passa por estabilização por tratamento térmico, é adicionado CO₂ à baixa temperatura, acondicionado em garrafas que suportam altas pressões, rotulado e encaixotados.

No entanto, se comparar o processo de elaboração da sidra brasileira, com a francesa (Figura 1) verifica-se que diferem em vários aspectos. Segundo Paganini et al. (2004), na Europa a elaboração da sidra é realizada com frutas de cultivares selecionadas, usando como marcadores de qualidade industrial os teores de acidez, taninos e açúcares. Componentes de extrema importância para a qualidade do produto e envolvem critérios de cor, sabor e aromas, atribuídos envolvidos no processo de compra e no hábito dos consumidores.

O processo de elaboração da sidra francesa considera a fermentação oxidativa como parte do processo microbiológico, pois as leveduras oxidativas, de baixa atividade fermentativa, propiciam aromas que recebem notas frutais e florais contribuindo para a qualidade do produto final. Para obtenção de uma sidra francesa de qualidade também é necessária a fermentação lenta, pois na fermentação rápida a presença de aroma de fermentado mascara o aroma frutado considerado desejável à qualidade do produto. O aroma de fermento é produzido em grande quantidade devido às elevadas temperaturas e grande população de

leveduras, podendo diminuir um pouco durante o processo de maturação, mas se estiver em grande quantidade permanecerá no produto final (SIMÕES, 2008; NOGUEIRA e WOSIACKI, 2010).

Outro aspecto importante é que a fermentação francesa não ocorre até a exaustão, permitindo a permanência de açúcares residuais da própria fruta e proporcionando baixo teor em álcool. A sidra brasileira apresenta características de bebida suave e baixa graduação alcoólica, por se elaborada com adição de água (SIMÕES, 2008).

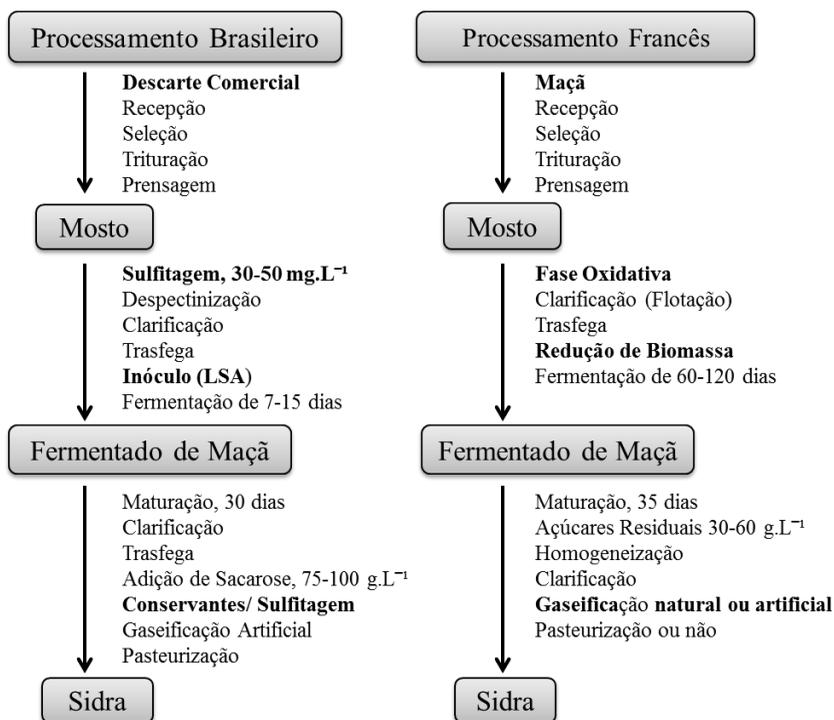


Figura 1 – Diferenças entre os processos de elaboração das sidras brasileira e francesa (Nogueira e Wosiacki, 2010).

Portanto, como pode ser observado há várias similaridades entre diferentes procedimentos para elaboração de sidras. Cada país possui uma legislação com algumas variáveis e a escolha destas variáveis será determinada em função do produto que se deseja obter. Se adaptados os pontos considerados positivos de cada metodologia e associá-los, é possível obter um produto novo, nobre e com características particulares

e principalmente com qualidade. Cada uma dessas etapas confere ao produto uma singularidade. Essas etapas compreendem desde a escolha da matéria-prima até o engarrafamento do produto. A subseção 2.4.1 apresenta algumas das etapas normalmente utilizadas para a obtenção de diferentes sidras elaboradas por alguns países:

2.4.1 Etapas da elaboração da sidra

2.4.1.1 Extração do Mosto

Após a escolha da matéria-prima adequada para a elaboração do produto, inicia-se a extração do suco da fruta. Essa etapa é uma operação de extrema importância afinal é a partir desse ponto que seu produto começa a ser elaborado.

Normalmente, as maçãs são desintegradas, geralmente em moinhos tipo martelo. Dessa forma se obtém uma polpa fina permitindo obter rendimentos elevados com um pequeno tempo de prensagem. O controle da espessura do triturado é importante, uma vez que as texturas das maçãs podem mudar de um lote para outro, devendo ser fino e sólido, evitando a formação de massa sem resistência que impossibilita ou prejudica o rendimento na prensagem. A maceração, processo que ocorre antes da prensagem, tem por objetivo acelerar a extração de compostos fenólicos presentes na casca da maçã e pode ser desenvolvida durante um período de tempo que pode levar de 5 minutos (a quente) até algumas horas (a frio), dependendo da tecnologia empregada pelo produtor. Nessa etapa do processamento, enzimas comerciais contendo pectinases e celulases podem ser adicionadas ao triturado como forma de diminuir a rigidez da parede celular melhorando o rendimento, atingindo cerca de 80-85% do peso da matéria-prima (HASHIZUME, 2001; NOGUEIRA e WOSIACKI, 2010; JACKSON, 2008).

O rendimento de suco obtido pela polpa de maçã é gerenciado pelos seguintes fatores: pressão aplicada, tamanho das partículas, duração da prensagem, adição de material sólido para auxiliar a operação, temperatura da polpa, uso de enzima (HASHIZUME, 2001). Ao avaliar a trituração e o tratamentos enzimáticos na obtenção de suco de maçã por centrifugação, Nogueira et al. (2005) concluíram que o melhor rendimento de suco obtido pela centrifugação está diretamente relacionado com a operação de trituração, sendo o melhor resultado quanto menor o tamanho do fragmento. Além disso, a polpa da maçã contém mais pectina que o suco, dessa forma, a sidra obtida de suco oriundo de polpa tratada com enzima pectinolítica apresenta maior

concentração de metanol do que aquela obtida de suco sem tratamento (HASHIZUME, 2001). Isso ocorre, pois polpa de maçã tratada com enzima pectinolítica apresenta um maior rendimento da extração de suco o que aumenta os teores de açúcares redutores totais e como consequência se obtém um produto com maior concentração de metanol. Estudos realizados por Madrera et al. (2008), em sidra, revelaram que a concentração de metanol presente na sidra está ligada com as atividades pectinolíticas das leveduras.

Após a extração do mosto, esse recebe uma sulfitagem a qual irá proporcionar algumas vantagens ao produto.

2.4.1.2 Sulfitagem

A sulfitagem consiste no emprego de anidrido sulfuroso (SO_2), também chamado de gás sulfuroso, no mosto ou no produto fermentado. Aproveitando-se das propriedades de SO_2 e empregando-o em doses criteriosas, o SO_2 torna-se um produto indispensável no processamento da sidra brasileira face às temperaturas durante o processamento, próximas de $25\text{ }^\circ\text{C}$, o que facilita a proliferação de microrganismos contaminantes (HASHIZUME, 2001; DIERINGS, 2008). Independentemente da forma que é empregado, SO_2 gasoso ou líquido, solução de bissulfito de potássio (KHSO_3) ou ainda metabissulfito de potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$), o efeito é o mesmo (NOGUEIRA e WOSIACKI, 2010).

O emprego de SO_2 na fabricação da sidra proporciona algumas vantagens, tais como efeito antioxidante, pois se combina com os produtos de oxidação química; efeito antioxidásico, ou seja, inibe a atividade das oxidasas; efeito antisséptico ao inibir uma vasta gama de microrganismos indesejáveis; efeito estimulante ao favorecer o crescimento de leveduras *Saccharomyces*, que apresentam certa resistência ao SO_2 ; antioxidante enzimático, combinando e impedindo as oxidações provocadas pelas enzimas *Tirosinase* e *Laccase* (HASHIZUME, 2001; HERRERO, GARCÍA e DÍAZ, 2003; HORNSEY, 2007; DEMOLINER, 2008).

O emprego de SO_2 na fabricação de sidra deve ser muito bem controlado, pois quantidade excessiva pode causar atraso no início da fermentação, aquisição de aroma picante deste produto e um gosto final desagradável; em quantidade demasiadamente fraca, o produto não está protegido das oxidações e possíveis refermentações. No Brasil, a concentração de SO_2 varia de $30\text{-}50\text{ mg.L}^{-1}$, dependendo da

concentração fitossanitária das frutas (HERRERO, GARCÍA e DÍAZ, 2003; DEMOLINER, 2008; NOGUEIRA e WOSIACKI, 2010).

Assim que o mosto estiver sulfitado e devidamente protegido, inicia-se a etapa inoculação de leveduras para a realização da fermentação alcoólica.

2.4.1.3 Inoculação de Leveduras

Hoje em dia, a grande maioria das indústrias produtoras de sidra, está inoculando leveduras puras e selecionadas. Entre as significativas influências que as cepas de leveduras proporcionam à sidra, está a capacidade de formação da espuma e o tempo de estabilização, além de afetar a concentração de compostos voláteis (MADRERA et al., 2008).

De acordo com Hashizume (2001) a melhor sidra, no processo tradicional, é produzida pela flora natural de levedura. No entanto, atualmente existem no mercado leveduras selecionadas secas e ativas (LSA) que asseguram a fermentação desde o seu início. Sua adoção e difusão devem-se ao fato de ser prática, segura e cômoda, além de não necessitar período de regeneração e propagação das células, basta reativá-las durante 15 a 20 minutos em água ou mosto na temperatura de 38 a 40 °C. Essas linhagens são selecionadas seguindo alguns requisitos:

- a) Rápido início de fermentação;
- b) Capacidade de concluir a fermentação;
- c) Poder de sedimentação (floculação) no final do processo;
- d) Tolerância a álcool e SO₂;
- e) Formação de álcoois superiores;
- f) Não formação de sulfeto de hidrogênio (H₂S);
- g) Células não mutagênicas, para que haja um parâmetro de qualidade constante;
- h) Produção ou degradação de ácidos orgânicos;
- i) Grau de autólise limitado ou decomposição de células;
- j) Ação sobre bactérias maloláticas, para que durante a fermentação alcoólica não ocorra a fermentação malolática que em alguns casos são indesejadas.

Por outro lado, segundo estudos realizados por Valles et al. (2008), o uso de linhagens isoladas de *Saccharomyces cerevisiae* é uma interessante estratégia para manter a qualidade e produção de bebidas fermentadas. Acredita-se que o uso de leveduras locais selecionadas adequadamente são mais competitivas por serem mais bem aclimatada às condições ambientais, além de assegurarem a manutenção das propriedades sensoriais típicas da região.

O que irá determinar a escolha correta das linhagens de leveduras é o produto que será elaborado e as características que se deseja obter. Para a elaboração das sidras francesas, por exemplo, antes da realização da fermentação alcoólica ocorre uma fase oxidativa, realizada por leveduras de baixa atividade enzimática, que pode durar de 5 a 15 dias após a preparação do mosto. No entanto, no decorrer do processo fermentativo, estas espécies de levedura vão desaparecendo progressivamente, devido a sua ineficiência em sobreviver em ambientes com altas concentrações de etanol. Para a elaboração de sidras brasileiras, essa etapa é eliminada com a adição de metabissulfito e de leveduras para a realização da fermentação alcoólica.

2.4.1.4 Fermentação alcoólica

A fermentação é uma forma de liberação de energia em que tanto o substrato quanto o subproduto são ácidos orgânicos. Embora existam muitos caminhos fermentativos, a *Saccharomyces cerevisiae* possui o mais comum: a fermentação alcoólica, onde o substrato é a glicose e o subproduto é o etanol (JACKSON, 2008). No entanto, a fermentação alcoólica além de representa a transformação dos açúcares em etanol é um processo complexo de transformações bioquímicas o qual se obtém outros subprodutos (ácido acético, ésteres, ácido succínico, gás carbônico) que podem contribuir positiva ou negativamente na qualidade sensorial do produto (MORENO-ARRIBAS e POLO, 2009).

A fermentação alcoólica constitui uma das etapas mais importantes para elaboração de vinhos e bebidas fermentadas, podendo ser conduzida, sob ação de microbiota selvagem presente na fruta e material de processamento ou pela adição de leveduras selecionadas. Durante o processo de fermentação alcoólica o mosto sofre grandes transformações bioquímicas fundamentais para obtenção de uma sidra de qualidade. As leveduras utilizam prontamente os açúcares simples, glicose e frutose transformando-os em etanol, CO₂ e produtos secundários como ácidos orgânicos, álcoois superiores e ésteres (ROZA et al., 2003; DIERINGS, 2008).

Em mosto de maçã não sulfitado, a fermentação inicia-se com *Kloeckera apiculata*, e segue acompanhado de espécies de *Saccharomyces*. Com a evolução da fermentação, as primeiras leveduras vão morrendo lentamente, e conseqüentemente, a maior parte da fermentação é realizada pelas cepas de *Saccharomyces* (HASHIZUME, 2001, JACKSON, 2008). Por outro lado, em mostos sulfitados, para que

haja o processo de fermentação alcoólica é necessária a adição de leveduras selecionadas.

Após o início da fermentação é de extrema importância o seu controle para a obtenção de uma sidra de alta qualidade sensorial. Baixas temperaturas, além de diminuir a velocidade da fermentação, permitem obter alto rendimento em álcool, não somente pela fermentação mais completa, mas também por minimizar a perda por evaporação (HASHIZUME, 2001; NOGUEIRA e WOSIACKI, 2010).

Em sidras obtidas com fermentação rápida, a presença de aroma de fermentado mascara ou substitui o aroma frutado, considerado como benéfico à qualidade do produto. Esse aroma de fermento diminui um pouco na fase de maturação, mas se for expressivo durante a fermentação, permanecerá no produto final (NOGUEIRA e WOSIACKI, 2010).

Com o término da fermentação alcoólica é necessária a realização de uma estabilização do produto, para evitar problemas de turvações futuras. Juntamente com a estabilização, normalmente realiza-se uma clarificação que tende a somar nos benefícios que essa trará para a obtenção do produto de alta qualidade.

2.4.1.5 Estabilização pelo frio

O tratamento pelo frio ou refrigeração consiste no arrefecimento das bebidas fermentadas a uma temperatura abaixo de 0 °C, favorecendo o processo de sedimentação. Este processo pode ser chamado de estabilização tartárica e ajuda na limpidez da bebida. A refrigeração produz unicamente transformações físicas e insolubilizações. Este processo pode provocar a precipitação de cristais (sais tartárico de potássio e cálcio); precipitar coloides (materiais corantes e proteínas); além de arrastar polissacarídeos. Este processo tem por objetivo evitar qualquer depósito dos sais de ácido tartárico, e outros compostos que podem não permanecer solúveis na sidra base. O aparecimento futuro destes cristais pode afetar a qualidade do produto a ser elaborado, visto que a precipitação destes cristais na garrafa dá a impressão de sidra alterada (PEYNAUD, 1982; CLARKE e BAKKER, 2004).

2.4.1.6 Clarificação

A clarificação ou sedimentação consiste na decantação progressiva das partículas que estão em suspensão no produto, após o término da fermentação. Normalmente, a sidra possui em suspensão leveduras, fragmentos de células provenientes da matéria-prima,

partículas amorfas, coloides e cristais. Aos poucos estas partículas sedimentam no fundo do recipiente que posteriormente serão eliminadas por trasfega. A velocidade de ocorrência deste processo vai depender das partículas que estiverem presentes, bem como do seu diâmetro. Portanto quanto maiores as partículas, mais rápida é a etapa de clarificação. Há algumas práticas enológicas, que podem auxiliar e facilitar esta etapa (PEYNAUD, 1982).

As sidras possuem agentes naturais de clarificação que são os álcoois, ácidos, pectinas, albuminas e taninos, mas que não são suficientes para uma boa clarificação. Uma das práticas enológicas que pode ser adotada para acelerar o processo de clarificação é “colagem”. Esta prática consiste em adicionar à sidra algum material de natureza proteica, como as gelatinas, caseínas ou albuminas que fazem com que as partículas em suspensão aumentem de volume e decantem com maior facilidade. Há, entretanto um tipo de “cola” mineral denominada de bentonite a qual é muito utilizada para auxiliar a clarificação da sidra (HASHIZUME, 2001).

A bentonite é uma substância mineral natural da família das argilas, um silicato de alumínio hidratado. Apresenta-se sob a forma de um pó, gorduroso ou tacto, ou ainda sob a forma de granulado. Ao entrar em contato com a água, a incorpora até 10 vezes o seu peso, o que permite preparar pastas gelatinosas, verdadeiras geleias minerais. A sua característica coloidal e a carga eletronegativa das suas partículas conferem-lhe um forte poder “absorvente” visto que as sidras estão carregadas de macromoléculas de proteínas de eletricidade positiva. Sidras coladas com bentonite ficam límpidas com o frio e não criam depósitos (PEYNAUD, 1982).

Sidra obtida com fermentação muito lenta, geralmente apresenta dificuldade para clarificar, portanto necessita de meios artificiais para remover a turvação. O mecanismo de colagem consiste em uma reação inicial da cola com taninos, álcool e sais minerais, presentes na sidra, formando um coágulo insolúvel seguida de formação de flocos, os quais, ao sedimentarem, arrastam as impurezas em suspensão. Outro fator que influencia na floculação é a temperatura, a qual se recomenda efetuar esta prática nos períodos mais frios do ano. Além disso, a sidra deve ficar em repouso, sem nenhum sinal de fermentação (HASHIZUME, 2001).

Assim que se conclui a etapa de estabilização a frio e a clarificação, é necessário realizar uma trasfega do fermentado.

2.4.1.7 Trásfega

É a operação de separação das borras presentes no produto após a estabilização, ou seja, ao final da fermentação alcoólica. As partículas sólidas suspensas na sidra começam a sedimentar, juntamente com as leveduras e outros microrganismos formando a “borra” no fundo do recipiente. Esse é um depósito indesejável, por conter matérias orgânicas e diversos microrganismos que podem provocar alterações, e ainda é sede de reações químicas e bioquímicas que possibilitam a formação de produtos de odor desagradável, como o gás sulfídrico (H_2S) ou mercaptano (C_2H_2SH), os quais depreciam a sidra. Sendo assim, é indispensável que a separação seja efetuada mais rápido possível, mesmo que a sidra esteja ainda turva. No entanto, para diminuir o risco de contaminação e oxidação, esta operação deve ser efetuada sem aeração e em atmosfera de gás carbônico (HASHIZUME, 2001).

Com o término desta etapa, tem-se um fermentado de maçã que também pode ser chamado de sidra base. A partir de então inicia a etapa de adição de gás carbônico que é o responsável pela “perlage” presente na sidra. Como foi mencionada anteriormente, essa etapa pode ser realizada através da gaseificação artificial ou natural. Na Espanha, para a elaboração das sidras das Astúrias, para a obtenção do gás, realiza-se uma segunda fermentação na sidra base, na mesma garrafa que posteriormente será adquirida pelo consumidor.

2.4.1.8 Obtenção do gás carbônico pelo método *Champenoise*

Este método, também chamado de método tradicional, é um método de refermentação natural de uma sidra base responsável por uma das principais características da bebida gaseificada: a “perlage”, que é a formação de borbulhas durante a liberação de CO_2 dissolvido. Essa metodologia, normalmente utilizada no Brasil para a elaboração de vinhos espumantes, também é utilizada para a elaboração de sidra das Astúrias.

Para a realização desta segunda fermentação, a sidra base é misturada com uma combinação de culturas de leveduras, sacarose e bentonite (VALLES et al., 2008). A quantidade de açúcar a ser adicionado deve ser calculada de modo a permitir a formação inicial de 5 a 6 atm de pressão, para que o produto final apresente no mínimo 4 atm de pressão, visto que ocorrem perdas de pressão no decorrer do processo de elaboração. Esse “mix” de levedura, sacarose e bentonite também chamado de licor de “tirage” é uma etapa de grande importância visto que a escolha da levedura influenciará a fermentação e

consequentemente o produto final (RIZZON, ZANUS e ABARZUA, 2000; TORRESI et al., 2011).

Após a adição do licor de “tirage” e de levedura nas garrafas, as mesmas são vedadas com tampa corona (iguais as de cerveja, com a diferença de possuírem diâmetro maior e um “copinho” junto à tampa, chamado “bidule”) e armazenadas em cave à temperatura de 12 a 14 °C, por um período que varia de um a três meses, dependendo da temperatura e do grau alcoólico do produto base utilizado (RIZZON, ZANUS e ABARZUA, 2000; GRAINGER e TATTERSALL, 2005; TORRESI et al., 2011).

Após concluir a etapa de refermentação, observa-se um depósito formado pelas leveduras. Caso tenha optado pela utilização de leveduras encapsuladas, este depósito não estará presente, no entanto, haverá apenas as leveduras encapsuladas presentes no meio. Para retirar o depósito, ou as leveduras encapsuladas, esse depósito deve ser conduzido para o bico da garrafa para ser retirado posteriormente. Esta operação é realizada em “pupitres” (tábuas de madeira furadas, dispostas em forma de V invertido, nos quais são colocadas as garrafas). Inicialmente, as garrafas são dispostas em uma posição mais horizontal, diariamente é realizada uma rotação e uma inclinação progressiva, para chegar ao final do processo em uma posição vertical. Esse processo é chamado de “remuage”. Esta etapa é eliminada quando se faz uso de leveduras encapsuladas. Após a “remuage” é realizado o processo de “dégorgement” com a finalidade de eliminar a borra depositada nos bicos das garrafas. Primeiramente, o bico é imerso em uma solução hidroalcoólica à -20 °C por aproximadamente 5 minutos. Em seguida, com o bico voltado para cima, é retirada a tampa do tipo corona, e a pressão presente no líquido expulsa o depósito congelado. Em seguida adiciona-se o “licor de expedição” caso seja necessário, para corrigir o açúcar residual, se uniformiza o nível da garrafa e tampa com rolha de cortiça e, por fim, acrescenta-se uma gaiola de arame galvanizado para proteger a rolha (RIZZON, ZANUS e ABARZUA, 2000; GRAINGER, TATTERSALL, 2005; HORNSEY, 2007; TORRESI et al., 2011).

Bebidas efervescentes muitas vezes são avaliadas pela “perlage” que possuem, ou seja, pelo tamanho das bolhas, quanto menor forem as bolhas melhor é o produto. Bebidas elaboradas feitas pelo método *Champenoise* apresentam perlage mais duradoura e intensa; bolhas finas e persistentes o que muitas vezes não acontece em produtos elaborados pelos outros métodos (HORNSEY, 2007).

No Brasil, seguindo a legislação, as sidras são gaseificadas artificialmente e compreendem uma pressão média de 2 atm, é um

produto de baixa graduação alcoólica e alta concentração de açúcar (Brasil, 2009). Essa alta concentração de açúcar, muitas vezes é utilizada com intuito de mascarar algum defeito oriundo da matéria-prima, já que esta muitas vezes não recebe a devida atenção. Pelo presente exposto, pode-se observar que se a metodologia *Champenoise* for empregada para a elaboração de uma sidra de qualidade, é possível obter sucesso e inovar o mercado de bebidas elaboradas com maçãs. Aliada a essa metodologia pode estar a utilização de leveduras encapsuladas que confere, a mesma, algumas vantagens.

2.5 LEVEDURA ENCAPSULADA

Na elaboração tradicional de vinhos espumantes a remoção de borras é um processo muito trabalhoso e demorado. A fim de obter biocatalizadores eficientes para vinhos espumantes produzidos por fermentação na garrafa e facilitar o processo de “remuage” e “dégorgement”, têm sido investigado o uso de leveduras imobilizadas (TORRESI et al., 2011). Isso demonstra que o desenvolvimento e aplicação de processos biotecnológicos têm se mostrado de forma inovadora no que diz respeito à facilidade e melhoria de qualidade dos produtos fermentados. A maioria dos processos fermentativos utiliza células livres em suspensão, entretanto a utilização de leveduras encapsuladas pode ser uma alternativa na elaboração de sidras elaboradas pelo método tradicional, a qual a segunda fermentação ocorre nas garrafas.

Ao longo dos anos, leveduras imobilizadas têm sido frequentemente utilizadas na produção de vinhos espumantes, as primeiras aplicações foram relatadas nos anos de 1987 por estudos realizados por Fumi, Trioli e Colagrande (TORRESI et al., 2011). A Figura 2 esquematiza de forma comparativa a elaboração de vinho espumante pelo método *Champenoise* com a adição de leveduras livres e encapsuladas.

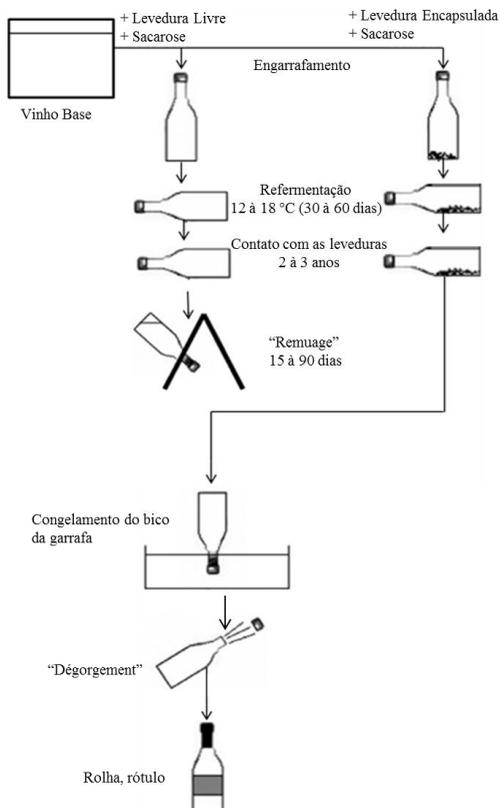


Figura 2 – Esquema do processo para a preparação de garrafas de vinho espumante pelo método tradicional com leveduras livres em comparação com leveduras encapsuladas (COLAGRANDE et al., 1994, em TORRESI et al., 2011).

A imobilização celular consiste no confinamento físico das células em uma matriz chamada suporte. Existem vários tipos desses suportes, entre eles destacam-se a crisotila (resíduo da indústria de cerâmica), bagaço da cana e géis como o alginato de cálcio (BATISTA 2005; COVISSI et al., 2007).

Por ser um polissacarídeo presente em todas as “algas marrons”, o alginato de cálcio torna-se o suporte mais barato e facilmente empregado. A principal vantagem de se investigar a fermentação com a utilização de células de levedura *Saccharomyces cerevisiae* em gel de alginato de cálcio deve-se ao fato de que, as células estão fisicamente aprisionadas dentro de uma matriz e assim possuem melhor retenção e

uma grande área superficial para uma operação eficiente. A imobilização de células permite o reuso de biomassa, melhora a estabilidade e diminui a contaminação do produto (BATISTA, 2005).

A utilização de leveduras encapsuladas na segunda fermentação na elaboração de sidras, não é uma técnica normalmente utilizada, mas que segundo a Proenol[®] (empresa biotecnológica portuguesa, sediada em Canelas – Vila Nova de Gaia), apresenta várias vantagens se comparadas com a fermentação de leveduras livres².

- Redução da mão-de-obra, tempo e espaço da cantina devido a eliminação da etapa de “remuage”;

- Facilidade de uso comparado com o método tradicional, eliminando o pé de cuba, pois as leveduras encapsuladas são adicionadas diretamente na garrafa sem haver a necessidade da preparação prévia do pé-de-cuba, como normalmente é feito;

- Diminui o risco de contaminação microbiológica, oxidação da cor e de perda de aromas. Para a preparação do pé-de-cuba, que ocorre normalmente em um período de 3 dias, é adicionado constantemente oxigênio em pequenas quantidades para um melhor desenvolvimento e multiplicação das leveduras. Essa etapa além de adaptar as leveduras ao meio facilita a arrancada da fermentação. No entanto devido a utilização de oxigênio e da realização desta etapa por um período longo, o produto fica exposta a contaminações e oxidações o que pode ocorrer a perda de aromas;

- Resposta rápida às necessidades do mercado e planejamento eficaz das expedições, pois a partir do momento que se define realizar a etapa de “degola” das garrafas, essa etapa pode ser feita imediatamente, afinal não será necessário a etapa de “remuage”;

- Características organolépticas idênticas à fermentação com leveduras livres.

Após ser adicionada na garrafa, a levedura encapsulada desempenha suas atividades fermentativas presas dentro das cápsulas, normalmente como ocorre com as leveduras livres. A principal diferença nesta etapa é que para retirar as leveduras encapsuladas basta uma simples inversão na garrafa, seguido do “dégorgement” (RIZZON, ZANUS e ABARZUA, 2000; TORRESI et al., 2011).

No entanto, a imobilização de células para a indústria de bebidas fermentadas deve ter alguns pré-requisitos adicionais tais como: a pureza de grau alimentício; ser de baixo custo; abundância; não-

² www.proenol.pt

degradável; e ser adequada para a fermentação em baixas temperaturas. Embora muitos suportes de imobilização têm sido sugeridas para aplicações em bebidas fermentadas, o uso industrial desta tecnologia ainda é incerto (TORRESI et al., 2011).

2.6 COMPOSTOS AROMÁTICOS PRESENTES NA SIDRA

Aroma é a sensação percebida pelos sentidos do gosto e olfato, produzida quando se ingere um alimento ou bebida. É um dos atributos de maior importância na qualidade do produto. A sensação de aroma da sidra, por exemplo, é atribuída pela presença de numerosos compostos químicos tais como álcoois superiores, ácidos, ésteres, cetonas, aldeídos, terpenos, lactonas e outras moléculas complexas que resulta do metabolismo secundário. Certos fungos, leveduras e bactérias também possuem potencial para metabolismo secundário e podem produzir aromas e fragrâncias (VALDUGA, 2005; SIMÕES, 2008; RITA et al., 2011). Os ésteres formados por fungos e leveduras são exemplos de metabolitos secundários. Em geral, compostos voláteis, responsáveis por proporcionar o aroma da sidra, são metabolitos secundários produzidos pelos microrganismos, mas que não são essenciais ao seu metabolismo. A produção de ésteres seria o mecanismo responsável pela remoção de ácidos e álcoois da célula e do meio, pois, se houvesse um acúmulo destes compostos, poderia ser tóxico para a célula (WELSH, 1995).

A Tabela 2 indica exemplos de aromas produzidos por microrganismos e seus constituintes químicos. Na sidra, o aroma desempenha um papel significativo em sua qualidade, e a composição dos compostos aromáticos voláteis dependem da tecnologia utilizada (como, por exemplo, do tempo e temperatura de fermentação e de inoculação bem como da agitação e aeração) das etapas de processamento, da matéria-prima (seus fatores ambientais, varietais e grau de maturação), do tipo de microrganismo utilizado no processo fermentativo bem como das condições de armazenamento (JANZANTTI, FRANCO e WOSIACKI, 2003; VALDUGA, 2005; SIMÕES, 2008; RITA et al., 2011; BRAGA et al., 2013).

Durante o processo de autólise, as leveduras liberam diferentes compostos no meio extracelular que melhora as características sensoriais do produto. As principais alterações consistem em variações de polissacarídeos, a fração de nitrogênio a compostos aromáticos (MADRERA et al., 2008). Segundo estudos realizados por esse autor, com linhagens de leveduras extraídas de vinhos e de sidra utilizadas na segunda fermentação, bem como o tempo de envelhecimento em

garrafas, mostram que em termos gerais, as alterações no conteúdo dos compostos voláteis analisados nestas sidras durante o envelhecimento com as leveduras foi semelhante aos observados nos vinhos espumantes com idade entre 9 meses após a tiragem. Em desacordo com um relatório anterior, os resultados mostraram que tanto o tempo de envelhecimento quanto as cepas de leveduras tem uma grande influência sobre a composição volátil de sidras. Em resumo, ambos os fatores estudados, leveduras e tempo de envelhecimento, afetaram a concentração de compostos voláteis na sidra, através de síntese distinta e rotas de degradação. Além disso, as diferenças em relação a outras bibliografias dadas poderiam ser explicadas com base em diferentes práticas enológicas. Esses estudos revelaram ainda que a concentração de alguns compostos aromáticos presentes na sidra como metanol e 1-propanol foram apenas significativamente influenciada pelas linhagens de leveduras, enquanto que 1-butanol, butirato de etila e hexilacetato não foram influenciados pela levedura nem pelo tempo de envelhecimento na garrafa.

Em estudos realizados por Rita et al. (2011) sobre a composição de compostos aromáticos em suco de maçã fermentado, comparando o efeito da variedade da maçã, temperatura de fermentação e concentração de levedura inoculada, pode-se perceber que alguns compostos (aldeídos hexanal e 2-hexenal e álcoois 2-hexen-1-ol) encontrados no suco da maçã, não são possíveis de serem encontrados nos fermentados. Um total de 16 compostos voláteis foram detectados em fermentados de maçãs “Auksis”, na fase inicial de fermentação que ocorreu de 13 a 28 dias. Na maior parte dos fermentados foram detectados álcoois (67,5%), ésteres (31%) e ácidos (1,6%) após 8 dias de fermentação, e álcoois (54,1%), ésteres (42,8%) e ácidos (3,2%), após 28 dias de fermentação. Pode-se perceber também que foi possível detectar elevadas concentrações de compostos aromáticos presentes no suco da maçã, em fermentados com menor concentração de levedura inoculada, seguido do fermentado com menor concentração de levedura em comparação com a temperatura mais elevada.

Segundo Picinelli et al. (2002), o aroma da sidra é constituído por álcoois superiores, tais como os amílicos, 2-fenil-etanol, butanol, 2-3-butanodiol e isobutanol, e ésteres como o acetato de etila. Alguns destes compostos são próprios da maçã como, por exemplo, o butanol, enquanto que os outros como amílicos e o acetato de etila são produtos da fermentação. O isobutanol, também encontrado na sidra, aumenta os aromas frutados e perfumados e o 2-3-butanodiol apresenta ação inibidora sobre o aroma (SIMÕES, 2008).

Outros compostos que possuem uma influência significativa nos aromas da sidra são os ésteres. Embora alguns estejam presentes em pequenas concentrações, são formados no início da fermentação e decrescem ou permanecem até o término da fermentação. Quantitativamente, o principal éster é o acetato de etila derivado da etanolise de acetil Co-A. Em contraste com outros ésteres etílicos de alto peso molecular, que são elementos desejáveis ao aroma do vinho, o acetato de etila confere um odor desagradável influenciando negativamente na qualidade do vinho. O mesmo ocorre na sidra que possui grande quantidade de acetato de etila que parece aumentar a intensidade do aroma e sabor ácido acético, sendo considerado de baixa qualidade. A biossíntese de ésteres é afetada por vários fatores, como aeração do mosto, temperatura de fermentação, técnica de fermentação e mesmo maturidade dos frutos. Isto significa que a produção desses compostos voláteis deve ser controlada, e que métodos para prever a produção de éster seriam úteis na seleção de melhores condições operacionais para a fermentação (ROZA et al., 2003).

Tabela 2- Exemplos de aromas produzidos por microrganismos e seus constituintes químicos.

Microrganismos	Descrição sensorial	Voláteis Produzidos
Bactérias		
<i>Streptococcus</i> sp.	ácido, manteiga	acetaldeído, diacetil, acetoina
<i>Lactobacillus</i> sp.	ácido, manteiga	acetaldeído, diacetil, ácido láctico
<i>Propionibacterium</i> sp.	azedo, ácido	ácido láctico acetoina, aldeídos
Leveduras		
<i>Saccharomyces</i> sp.	pão, fermentação alcoólica	lactonas, álcoois, tiocompostos
<i>Geotrichum</i> sp.	melão	etil ésteres, álcoois
<i>Sporobolomyces</i> sp.	pêssego	lactonas
<i>Hansenula</i> sp.	floral, odor de solo	etil ésteres
<i>Kluyveromyces</i> sp.	frutas, rosas	feniletanol, ésteres, terpenos
Fungos		
<i>Aspergillus</i> sp.	cogumelo	álcoois insaturados
<i>Penicillium</i> sp.	cogumelo	2-fenil-etanol, metilcetonas
<i>Ceratocystis</i> sp.	banana, pêsego, ameixa, pêra	álcoois, lactona, ésteres

Fonte: WELSH (1995).

2.7 COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES NA SIDRA

Compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas na natureza que fazem parte dos constituintes de uma variedade de

vegetais, frutas e produtos industrializados. Podem estar presentes como pigmentos, que dão a aparência colorida aos alimentos, ou produtos de metabólitos secundários de plantas, dos quais diferentes milhões de compostos fenólicos têm sido identificados (SILVA et al., 2010; CEYMANN et al., 2012).

A quantidade de compostos fenólicos presentes, por exemplo na maçã, depende do cultivar, do clima, ambiente de plantio, nutriente disponível, do grau de maturação e das condições de cultivo (LOBO et al., 2009; ZARDO et al., 2009; CARVALHO et al., 2011). Os compostos fenólicos são distribuídos de forma desigual durante o desenvolvimento do fruto, sendo mais elevada na pele do que nas porções comestíveis, devido à disponibilidade de metabólitos e sais minerais, e exposição à radiação solar, uma vez que muitas enzimas envolvidas na síntese de tais compostos são induzidas pela luz (CARDOSO et al., 2011). Em estudos realizados por Zardo et al. (2009), sobre a intensidade de pigmentação vermelha em maçãs e sua relação com os teores de compostos fenólicos e capacidade antioxidante, o autor observou que a presença dos compostos fenólicos em diferentes partes das frutas apresentam diferença significativa, sendo que o epicarpo chega a contribuir com 53,3% dos fenóis da maçã inteira. Todos esses fatores associados ao processo de fabricação irão influenciar diretamente na composição do perfil fenólico de produtos de maçã, como a sidra (LOBO et al., 2009; ZARDO et al., 2009; CARVALHO et al., 2011).

Nas sidras os fenóis apresentam considerável interesse devido a sua influência nas características sensoriais (cor, gosto amargo, e adstringente), na formação de certos aromas e na transparência das bebidas. Neste sentido, os polifenóis estão envolvidos em termos de qualidade da sidra (ALONSO-SALCES et al., 2005; SIMÕES, 2008). Além disso, os compostos fenólicos são conhecidos por desempenhar um papel importante nos processos da sidra, uma vez que eles participam na clarificação espontânea, e apresentam um efeito inibidor sobre os microrganismos de destruição, assim como, sobre as enzimas de clarificação (ALONSO-SALCES et al., 2005).

Em sidras das Astúrias os principais polifenóis são os ácidos fenólicos (hidroxi e ácidos dihidroxicinâmicas) seguido de flavanóis (catequinas, epicatequinas e procianidinas), fenóis voláteis e dihidroalcanos, enquanto que flavonóis estão em menor proporção (LOBO et al., 2009).

2.8 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial é aplicada quando se objetiva avaliar as características sensoriais de determinado(s) produto(s) com uma finalidade específica (TEIXEIRA, 2009). De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1993), a análise sensorial é definida como sendo a disciplina científica usada para evocar (ou seja, preparar e servir as amostras objetivando minimizar erros), medir (coletando dados para medir a relação das características do produto e a percepção humana), analisar (através de métodos estatísticos) e interpretar (com base nos dados) as reações das características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos (visão, olfato, gosto, tato e audição).

Segundo Dutcosky (2007) a análise sensorial pode se aplicada na indústria de alimentos e nas instituições de pesquisa para os seguintes objetivos:

- a) Controlar as etapas de desenvolvimento de um novo produto: análise descritiva das amostras experimentais; classificação de cada amostra de acordo com os padrões estabelecidos; estabelecendo que um dos vários produtos experimentais tenha aceitabilidade igual ou melhor que o padrão;
- b) Avaliação do efeito das alterações nas matérias-primas ou no processamento tecnológico sobre o produto final;
- c) Redução de custos: um programa de redução de custos pode ser basear em elementos com ingredientes de menor preço, processos menos onerosos ou a produção em um local diferente;
- d) Seleção de nova fonte de suprimento;
- e) Controle de efeito da embalagem sobre os produtos acabados;
- f) Controle de qualidade;
- g) Estabilidade durante o armazenamento: vida de prateleira;
- h) Graduação ou avaliação do nível de qualidade do produto;
- i) Teste de mercado de um novo produto ou produto reformulado.

No entanto, para que se possa definir o critério de aplicação da análise sensorial a ser utilizada, é necessário saber o que se pretende obter de resposta mais adequada ao perfil pesquisado do produto. Esses métodos apresentam características que se moldam com o objetivo da análise. Como forma de análise sensorial de alimentos os métodos de degustação, foram aplicados pela primeira vez na Europa, há tempos atrás, com o principal objetivo de controlar a qualidade de cervejarias e destilados. Durante a segunda guerra mundial, nos Estados Unidos,

surgiu a necessidade de produzir alimentos de qualidade e que fossem aceitos pelos soldados do exército. A partir desse momento surgiram os métodos de aplicação da degustação, estabelecendo a análise sensorial como base científica. No entanto essa prática chegou ao Brasil em 1954 para avaliar o café (TEIXEIRA, 2009).

Hoje em dia, uma das principais formas de se avaliar a qualidade de uma nova bebida, antes de lançar ao mercado, é através da degustação. Degustar uma sidra, por exemplo, nada mais é do que avaliar as características de limpeza, cor, sabor, perfume, “bouquet”, efervescência e espuma que a sidra apresenta.

Existem vários métodos, com objetivos específicos, para fazer análise sensorial. O método de análise descritiva quantitativa (ADQ) é um método que permite avaliar, simultaneamente, num ou mais produtos vários atributos sensoriais presentes tais como: aparência, cor, aroma, sabor e textura. O ADQ é normatizado pela ABNT-NBR 14140 (1998), o qual utiliza escala não estruturada de 9 a 15 cm, ancoradas um pouco aquém dos extremos com termos que indicam a intensidade do atributo que está sendo avaliado (Figura 3). Os dados obtidos, normalmente são submetidos à análise de variância, as diferenças entre tratamentos devem ser analisadas utilizando-se testes de comparação de médias, tais como o teste de Tukey e seus atributos podem ser representados por gráfico aranha (DUTCOSKY, 2007; TEIXEIRA, 2009).

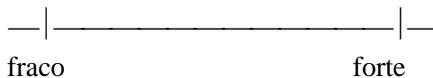


Figura 3 – Escala não estruturada de indicação da intensidade do atributo na análise sensorial (DUTCOSKY, 2007).

Esse é um teste que requer mais de cinco julgadores treinados e experientes, pois exige muita habilidade para poder diferenciar as várias características presentes (TEIXEIRA, 2009).

No que diz respeito aos atributos analisados, a degustação compreende três formas de avaliação: visual, olfativa e gustativa.

A análise visual compreende quatro elementos que compõem o aspecto do produto: a cor, a limpidez, a viscosidade e a presença de gás. A cor pode ser avaliada verificando a transparência ou passagem de luz através do líquido. Para que um produto esteja límpido ele deve estar isento de qualquer turbidez ou opalescência. Quanto ao atributo da viscosidade, esse pode ser observado devido ao conteúdo do álcool e da

glicerina, que formam “arcos” nas paredes das taças. Quanto mais grosso e consistente esse arco, maior o teor de álcool e glicerina presente no produto. A presença do gás carbônico é um dos atributos de maior importância em produtos efervescentes como os vinhos espumantes e sidras. A borbulha, formada devido à presença do gás, deve ser analisada sob dois aspectos: o tamanho da borbulha (quanto menor, melhor, pois representa produtos elaborados lentamente e com controle de fermentação) e a persistência da espuma (que é o tempo em que o produto permanece borbulhando, e quanto maior, melhor) (LONA, 1997).

Na análise olfativa podem ser percebidos quais aromas estão presentes no produto. Esses aromas podem ser de ordem primária, como o aroma da fruta, ou de ordem secundária, que são os aromas gerados durante o processo fermentativo ou provenientes de reações químicas durante o envelhecimento (PEYNALD, 1982; SIMÕES, 2008).

Através da análise gustativa é possível perceber nas bebidas as sensações de sabores: doce, ácido, e amargo. Os sabores doces são os que transmitem as sensações de doçura e que além de serem resultantes da presença de açúcares, podem ser devido à presença de alguns componentes que transmitem essa sensação, assim como o álcool e a glicerina. Quando a presença de açúcar está equilibrada, diz-se que essa bebida é uma bebida “macia”. A sensação ácida é decorrente da presença dos ácidos orgânicos livres, tais como o ácido tartárico, ácido málico, ácido láctico e o cítrico. A presença do ácido málico, que compõe as sidras, pode ser sentida na parte superior da língua, na forma de “acidez agressiva”, que quando excessiva, é desconfortante, porque dá a sensação de dificuldade de engolir. O amargo é percebido no fundo da parte central da língua, logo após engolir a bebida. Dentre todos os sabores é o mais fácil de reconhecer e o mais desagradável. Sua presença pode ser devida à presença da acidez volátil decorrente de uma falha no processamento ou até mesmo da má classificação da matéria-prima (PEYNALD, 1982; LONA, 1997).

As qualidades sensoriais de uma bebida podem ser provenientes dos resultados de um longo período de dedicação do elaborador, bem como as técnicas utilizadas e da harmonia que essa bebida transmite através do equilíbrio das substâncias que a compõem. Essas qualidades podem ser avaliadas através da degustação que nada mais é do que apreciar através da visão, do olfato e do paladar as qualidades e defeitos de uma bebida. É submeter aos nossos sentidos um produto para assim tentar conhecer e avaliar suas características organolépticas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATÉRIA-PRIMA

Foram utilizadas maçãs de diferentes cultivares (cv.) cedidas pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina - Epagri – Estação Experimental de Caçador, colhidas durante o período de Janeiro à Abril de 2011. A Tabela 3 descreve algumas características das cultivares utilizadas.

Tabela 3 - Características das cultivares utilizadas.

Cultivar	Origem	Produtora/ Polinizadora	Período de Colheita	Requerimento de Frio ($\leq 7,2^{\circ}\text{C}$)
Condessa	Brasil (Epagri)	Produtora	1ª quinzena de Janeiro	a
Imperatriz	Brasil (Epagri)	Produtora e/ou Polinizadora	2ª quinzena de Janeiro	b
Joaquina	Brasil (Epagri)	Produtora e/ou Polinizadora	2ª quinzena de Fevereiro	b
Fred Hough	Brasil (Epagri)	Produtora da cv. Imperatriz	-	b
Daiane	Brasil (Epagri)	Produtora	1ª quinzena de Março	c
Sansa	Japão	Polinizadora da cv. Daiane	-	d
Imperial Gala	Nova Zelândia	Produtora	1ª quinzena de Fevereiro	d
Fuji	Japão	Produtora	1ª quinzena de Abril	d

a) Baixo: clima de inverno ameno, com até 450 horas;

b) Médio: entre 550 à 650 horas;

c) Médio à alto: entre 600 e 700 horas;

d) Alto: mais de 650 horas;

Fonte: Epagri – Estação Experimental de Caçador.

3.3 ETAPAS DE ELABORAÇÃO DA SIDRA

3.3.1 Extração dos Mostos

Foi realizada no laboratório de Biotecnologia Industrial da UNOESC - Campus Videira, no ano de 2011. O mosto de cada cultivar

foi preparado e fermentado separadamente. Para isso as frutas foram descongeladas a temperatura ambiente até que fosse possível realizar a extração do suco. Com as frutas ainda refrigeradas, foi realizada a extração do suco utilizando centrífuga da marca Mondial[®], 800W. No momento da extração, a fase sólida (casca/bagaço) foi separada do líquido e recebeu $0,4 \mu\text{L.Kg}^{-1}$ de enzima pectinolítica (ICS10 - AEB[®] Group). Com o término da extração do suco, foi adicionado $0,15 \text{ g.kg}^{-1}$ de Vinoaromax[®] (metabissulfito de potássio e ácido ascórbico - AEB[®] Group) (Tabela 4).

Tabela 4 - Concentração da enzima pectinolítica (ICS10) e Vinoaromax[®] utilizada no processo de extração do mosto da maçã

Cultivar	Peso (kg)	Enzima (mL)	Vinoaromax[®] (g)
Condessa	13	0,05	1,95
Daiane	14	0,05	2,10
Fred Hough	10	0,04	1,50
Fuji	8	0,04	1,20
Imperatriz	12	0,05	1,80
Imperial Gala	11	0,04	1,65
Joaquina	12	0,05	1,80
Sansa	14	0,05	2,10

Trinta minutos após a conclusão da extração do suco, a casca/bagaço e o suco, foram transferidos para um tanque de aço inoxidável com capacidade para 15 litros. A junção do líquido com a casca/bagaço teve como objetivo a maior extração de compostos fenólicos e aromas. A Figura 4 demonstra esta etapa de elaboração.

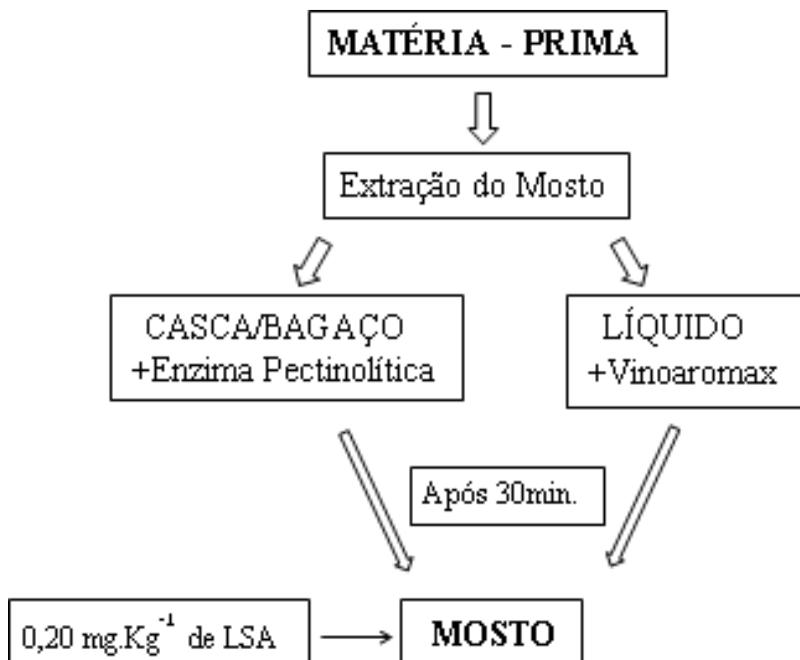


Figura 4 – Fluxograma do processo de extração dos mostos.

3.3.2 Elaboração da Sidra Base

Quando o mosto atingiu a temperatura de 14 ± 2 °C foi realizada a inoculação das leveduras ($0,20 \text{ mg.Kg}^{-1}$ de LSA: Fermol Aromatic composto de *Saccharomyces cerevisiae* - AEB® Group). O inóculo adicionado seguiu as recomendações do fabricante.

As fermentações foram realizadas, em reatores de aço inoxidável com capacidade para 15 litros, na temperatura de 16 ± 2 °C por 12 dias. Foi efetuada uma homogeneização diária, com objetivo de aumentar o contato do mosto com as cascas/bagaço. A Figura 5 apresenta as etapas de elaboração das sidras base.

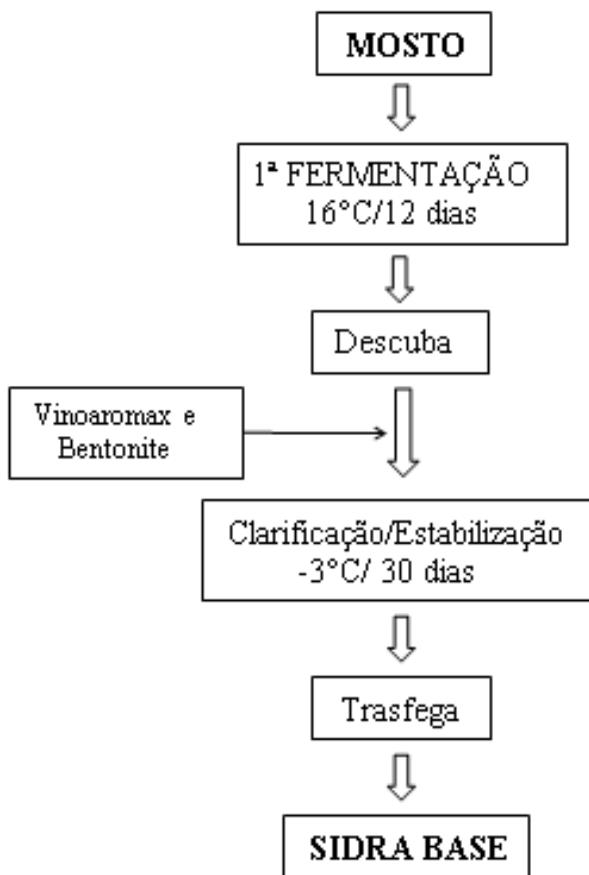


Figura 5 – Fluxograma da obtenção das sidras base.

Ao final da primeira fermentação, foi realizado a descuba para recipiente de vidro para separação das frações sólidas. Em seguida foi adicionado $0,1 \text{ g.L}^{-1}$ de Vinoaromax[®] e 1 g.L^{-1} de bentonite (para clarificação). As sidras base foram homogeneizadas separadamente e submetidas à estabilização a frio (acondicionadas em “freezer”, $T = -3 \text{ °C}$ – Figura 6) para auxiliar a etapa de clarificação e estabilização do produto.



Figura 6 – Sidras base acondicionadas em freezer (-3 °C) para clarificação e estabilização.

Após 30 dias, as borras depositadas (Figura 7A) foram separadas por trasfega (Figura 7B).



Figura 7 – Borras formadas durante a clarificação e estabilização (A) e trasfega das sidras base (B).

3.3.3 Elaboração da Sidra – Segunda Fermentação

A terceira etapa da elaboração das sidras (Figura 8) foi realizada na EPAGRI – Estação Experimental de Videira. As bases, já clarificadas e estabilizadas, foram adicionadas de *Mix-acid* [ácido málico (36%), ácido lático (32%) e água] em quantidade suficiente para que a sidra base pudesse atingir aproximadamente 80 mEq.L⁻¹ em ácido málico de acidez total (para cada base foram acrescentadas quantidades diferentes, devido as distintas concentrações iniciais de acidez de cada base).

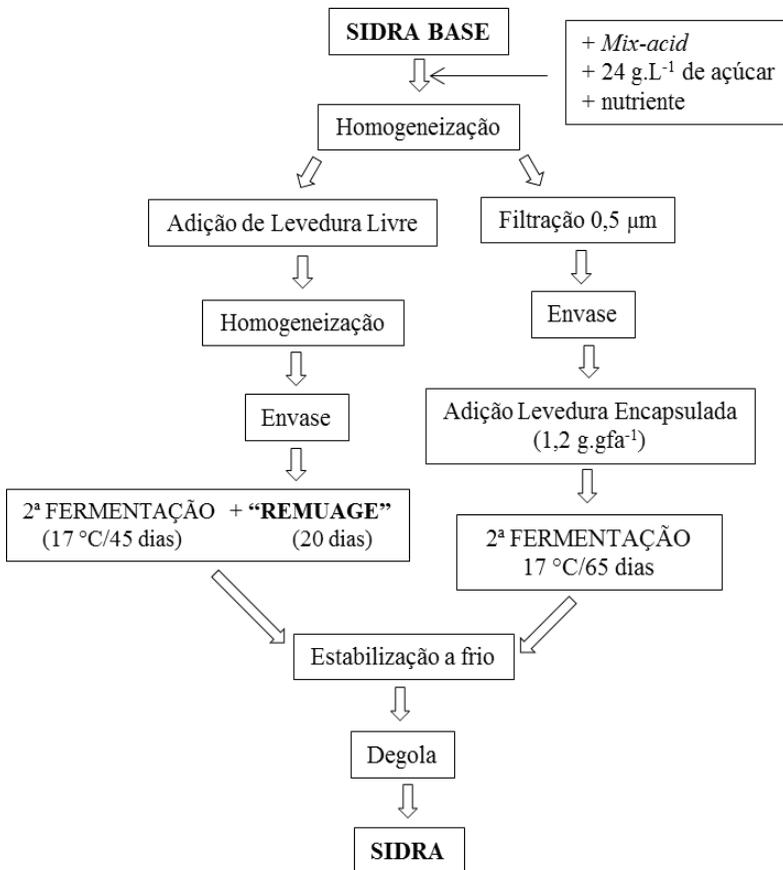


Figura 8 – Fluxograma do processo da elaboração das sidras.

Em seguida foi adicionado $0,30 \text{ g.L}^{-1}$ do nutriente Fermoplus® Blanc Varietal (paredes celulares de leveduras, fosfato de amônio bibásico, caseinato de potássio, tanino enológico, celulose, enzima pectinolítica e cloridrato de tiamina - AEB® Group) e 24 g.L^{-1} de sacarose (o suficiente para formação de 6 atm de pressão). Cada base foi homogeneizada e dividida em duas partes com volumes iguais:

1) Na primeira fração foi acrescentada levedura livre (Fig. 9) Fermol® Remis Champagne (*Saccharomyces cerevisiae bayanus*), conforme instruções do fabricante. O líquido foi então homogeneizado e engarrafado;

2) A outra parte foi filtrada em filtro de celulose (porosidade de $0,5 \text{ micrômetros}$), acondicionadas em garrafas com capacidade de 750

mL seguido da adição de 1,2 g de leveduras encapsuladas ProElif® PROENOL industrias Biotecnológica Ltda. (Figura 9A), conforme indicação do fabricante.



Figura 9 - *Saccharomyces cerevisiae* nas formas: (A) encapsulada e (B) livre.

Todas as garrafas foram então lacradas com tampas corona contendo “bidule” (Figura 10A) e acondicionadas em ambiente climatizado a 17 °C por 45 dias para a realização da segunda fermentação.

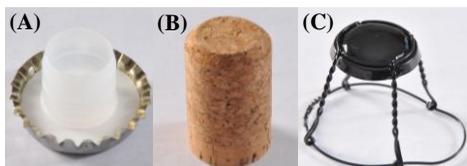


Figura 10 – Vedações de garrafas: (A) Tampa corona com “bidule”; (B) Rolha de cortiça – aglomerada com disco natural; e (C) Gaiola de arame galvanizado.

Após esse período as garrafas foram acondicionadas em pupitres (Figura 11), para a realização da “remuage” o processo constitui giro das garrafas em 1/4 de volta, no sentido horário, e aproximadamente um grau em direção à vertical, utilizando-se as mãos, em movimentos repetitivos. Esse trabalho foi feito diariamente (apenas garrafas que possuíam leveduras livres) por 20 dias, até que as garrafas estivessem com o bico voltado para baixo (giro de 180 a 270°).



Figura 11 - Processo de “remuage” – garrafas no pupitre.

Completado a “remuage”, as garrafas contendo as sidras elaboradas com leveduras livres e encapsuladas, foram acondicionadas em caixas de material plástico com suporte interno (Figura 12) para que as mesmas permanecessem com o bico para baixo e pudessem ser colocadas em câmara fria ($T = -3\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 7 dias), para estabilização do produto e refrigeração das garrafas para posteriormente seguirem refrigeradas para próxima etapa.



Figura 12 – Acondicionamento das garrafas (invertidas) em caixa.

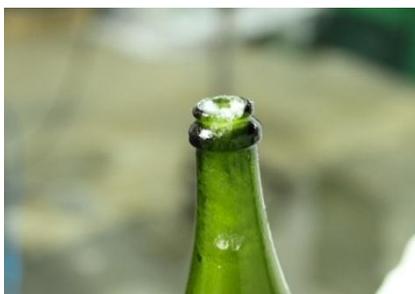
Após esta etapa foi realizado o processo de degola das garrafas conforme representado na figura 13. As garrafas foram tampadas com rolha de cortiça (Figura 10B) e protegida por uma gaiola de arame galvanizado (Figura 10C).



1 ° Passo: Congelamento do bico da garrafa em EtOH 40%, T= -30 °C



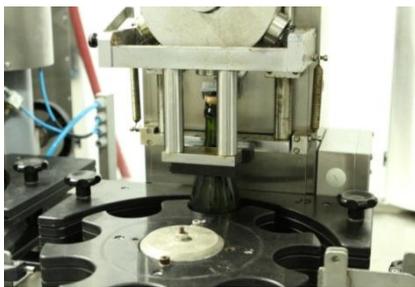
2 ° Passo: Retirada da tampa corona com auxílio de um Degorgiador



3 ° Passo: produto sem as borras



4 ° Passo: rolhamento



5 ° Passo: engaiolamento



6 ° Passo: vedação concluída

Figura 13 – Operação de “degorgement” e fechamento das garrafas.

3.4 DETERMINAÇÃO ANALÍTICA

3.4.1 Amostragem

Foram amostrados três pontos do processo de elaboração da sidra, sendo eles:

Mosto: No laboratório de Biotecnologia Industrial da UNOESC - Videira, as frutas selecionadas e limpas foram fragmentadas e trituradas em centrífuga (Mondial® 800W). No momento da extração dos mostos, a própria centrífuga fez a separação das cascas. Após o término da extração do mosto foram retiradas duas alíquotas de 300 mL, as quais foram acondicionadas em garrafas de politereftalato de etileno (PET) e mantidas na temperatura de $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a realização das análises.

Sidra Base: após a conclusão da estabilização/clarificação foi retirada uma alíquota de 400 mL de cada uma das 08 sidras base elaboradas, as quais foram acondicionadas em garrafas PET e mantidas na temperatura de $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a realização das análises.

Sidra: Após a realização da etapa de “Degola” foram separadas 2 garrafas, com capacidade de 0,750 L de cada sidra para a realização das análises. As garrafas permaneceram à temperatura de $17\text{ }^{\circ}\text{C}$, juntamente com as demais, por 30 dias, até a realização das análises.

3.4.2 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas de acidez total (mEq.L^{-1} em ácido málico), acidez volátil (g.L^{-1} em ácido acético), ácido málico (g.L^{-1}), açúcares redutores totais (g.L^{-1}), álcool (% V/V), densidade (g.L^{-1}) e pH. foram realizadas no Laboratório Enolab (RS) utilizando o equipamento Wine Scan™ T120 (Figura 14). O equipamento utiliza a tecnologia de espectroscopia Infravermelho por Transformada de Fourier, em que obtém um espectro idêntico ao da espectroscopia dispersiva, mas através de um interferômetro que realiza a varredura medindo múltiplos parâmetros em bebidas e mostos.

As análises de °Brix foram realizadas por meio de refratômetro. O álcool potencial teórico foi obtido através da relação do açúcar presente no mosto com a quantidade que a levedura utiliza para converter em 1 °GL. Em média 17 g.L^{-1} de açúcar são convertidos em 1 °GL (LONA, 1997).



Figura 14 – Aparelho Wine Scan™ FT 120

3.4.1 Pressão

A pressão da sidra nas garrafas foi determinada a 20 °C por meio de um manômetro próprio para perfurar rolha. O manômetro foi fixado na rolha e essa perfurada transferindo, conseqüentemente, pressão para o manômetro (Figura 15).



Figura 15 – Manômetro adaptado com agulha à rolha para verificação da pressão nas garrafas.

3.4.2 Teste de Proteína

A amostra foi filtrada em três filtros qualitativos e colocadas 5 mL em tubos de ensaio de 10 mL. Os tubos foram colocados em banho-maria até atingir 80 °C permanecendo nessa temperatura por 15 minutos. Em seguida resfriou-se a amostra em água a temperatura ambiente por 20 minutos, tendo o cuidado para não mexer na amostra. Tampou-se o frasco e cuidadosamente deitou-se o tubo sobre a luz. Lentamente, com o frasco na horizontal, foram feitos movimentos para uma leve homogeneização. O teste resultou positivo quando houve o aparecimento de nuvens ou pequenos grumos na amostra.

3.5 ANÁLISE SENSORIAL

As amostras das sidras elaboradas foram avaliadas por um painel sensorial e constituída de 10 enólogos, acostumados a realizar análise sensorial em vinhos e espumantes. As avaliações foram realizadas na sala de degustação da Epagri -Videira no ano de 2012 (Figura 16).

O método de avaliação adotado foi o de análise descritiva quantitativa sendo utilizada escala hedônica estruturada de 0,0 a 9,0 centímetros com os termos que indicam a intensidade dos descritores (Figura 17).



Figura 16 – Análise sensorial (painel de avaliadores).

As amostras foram servidas aos provadores em taças de espumante brasileiro padronizadas: incolor, transparente e codificadas com algarismos de três dígitos. Para realizar o enxágue bucal foi utilizada água mineral em temperatura ambiente.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a realização do tratamento dos dados foram utilizados os seguintes testes para comparação das médias: ANOVA (análise da variância) e MANOVA (análise multivariada as variância) e Tukey HSD ($p < 0,05$). O programa utilizado foi o software Microsoft Office Excel® 2007.

Nome:..... Data:

Prove cuidadosamente a amostra e avalie a intensidade da cada atributo de acordo com a escala, após análise das características abaixo:

Amostra _____

<p>Sensação Visual</p> <p>Perlage</p> <p>Imperceptível Muito intenso</p> <p> </p>	<p>Aroma de fermentado</p> <p>Imperceptível Muito intenso</p> <p> </p>
<p>Efervescência</p> <p>Imperceptível Muito intenso</p> <p> </p>	<p>Sensação Gustativa</p> <p>Adstringente</p> <p>Imperceptível Muito Intenso</p> <p> </p>
<p>Espuma</p> <p>Imperceptível Muito intenso</p> <p> </p>	<p>Corpo</p> <p>Aguado Encorpado</p> <p> </p>
<p>Cor</p> <p>Amarelo palha Amarelo ouro</p> <p> </p>	<p>Impressão Global</p> <p>Desgostei Gostei muito</p> <p> </p>
<p>Sensação Olfativa</p> <p>Aroma frutado</p> <p>Imperceptível Muito intenso</p> <p> </p>	<p>Obs:</p> <p>.....</p>

Figura 17 – Ficha utilizada para avaliação sensorial das sidras.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS MOSTOS

A composição do mosto de maçã é consequência dos fatores naturais, como o solo e o clima, onde estão instalados os pomares, assim como dos fatores agrônômicos de produção das frutas como os tratamentos culturais, adubação, época da colheita, bem como da própria cultivar.

Os sólidos solúveis totais medidos em °Brix representam um conjunto de substâncias presentes no mosto da maçã, com predominância dos açúcares, os quais estão diretamente relacionados com a densidade. O °Brix médio das amostras foi de $13,52 \pm 0,91$, sendo a cv. Imperial Gala a única que apresentou valor abaixo do descrito por Paganini et al. (2004), no estudo de aptidão industrial de seis cultivares de maçã, que foi de $12,56$ °Brix (Tabela 5).

Na indústria, °Brix ou a densidade são utilizados rotineiramente como um parâmetro semi-quantitativo. No presente estudo a previsão de potencial alcoólico foi relacionada com a concentração de açúcares redutores totais, conforme descrito no item 3.4.2 sendo assim, como pode ser observado na Tabela 5, a maior graduação Brix foi do mosto da cv. Condessa com maior potencial alcoólico teórico. No entanto, o mosto da cv. Fuji apresentou a maior média ($8,33\%$ V/V) (Tabela 5).

A densidade do mosto pode variar de 1,040 a 1,100, basicamente em função do teor de açúcares presentes (HASHIZUME, 2001). O valor médio da densidade dos mostos das cultivares do presente estudo foi de $1,048 \pm 0,006$ (Tabela 5). Na análise da regressão entre a densidade e açúcares redutores totais o coeficiente de determinação foi $R^2=0,991$ onde apenas 0,009% dessa variação não pode ser explicada, com um coeficiente de correlação $R=0,9952$ demonstrando forte relação positiva entre os dois parâmetros (Figura 18).

As concentrações de açúcares redutores totais dos mostos das maçãs avaliadas foram significativamente diferentes entre si ($p < 0,05$). As cvs. Imperatriz, Condessa e Fred Hough, apresentaram os menores valores médios ($10,48 \pm 0,09$ g.100mL⁻¹), estando em acordo com os valores médios das maçãs brasileiras, de $10,80$ g.100mL⁻¹, avaliado em outros estudos (NOGUEIRA e WOSIACKI, 2010). A cv. Fuji foi a que apresentou maior concentração de açúcares redutores totais ($14,16$ g.100mL⁻¹), bem como de densidade, com consequente maior álcool teórico (Tabela 5). Em se tratando de classificação de maçãs industriais, os teores de açúcares redutores totais, constituem um importante parâmetro para os processos industriais de fermentação. Pois

considerando que os valores de açúcares redutores totais superiores a 10 g.100mL⁻¹ são encontrados em maçãs maduras, as amostras do presente estudo são consideradas maçãs em bom estado de maturação (PAGANINI et al. 2004).

Considerando a legislação brasileira, onde a graduação alcoólica da sidra está compreendida entre 4 e 8% (V/V), seria previsível a necessidade do controle da fermentação da cv. Fuji, ou a realização de um “corte” com uma base de outra cultivar com álcool teórico inferior. No entanto, este parâmetro não foi levado em consideração para a continuidade desse estudo visto que a fermentação é um processo biológico que por sua natureza complexa, está sujeita a ação de outras variáveis do processo.

No Brasil, até o presente momento, não existe uma classificação para as maçãs destinadas à produção de sidras. Em países europeus, como a Inglaterra, por exemplo, os teores de acidez expressa em ácido málico devem estar acima de 0,45 g.100mL⁻¹ ou 67 mEq.L⁻¹ e compreendem as maçãs denominadas ácidas, enquanto, teores abaixo desse valor compreendem as maçãs doces. No presente estudo, o valor médio da acidez total das cultivares foi de 0,41 g.100mL⁻¹ (Tabela 5). Portanto, segundo Beech (1972), as cultivares utilizadas neste estudo não alcançaram os valores preconizados em termos de acidez total para classificação de maçãs destinadas a produção de sidra. O mesmo ocorreu nos estudos realizados por Paganini et al. (2004), analisando a aptidão industrial das cultivares Gala, Eva, Rainha, Fred Hough, Imperatriz e Sansa, colhidas durante a safra 2001/2002 onde o valor médio de acidez total titulável, expresso em ácido málico, encontrado foi de 0,33 g.100mL⁻¹.

Em relação à acidez volátil dos mostos observou-se que a cv. Daiane apresentou a maior média entre as cultivares, indicando diferença significativa ($p < 0,05$), seguido das cultivares Joaquina (0,65 g.L⁻¹) e Imperatriz (0,62 g.L⁻¹), as quais não apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) (Tabela 5). Os valores observados em termos de acidez volátil no mosto, ainda são considerados aceitáveis, uma vez que o valor indicação de qualidade para a sidra é de no máximo 20 mEq.L⁻¹ o que representa um valor máximo de 1,5 g.L⁻¹ expressa em ácido acético (BRASIL, 2009), sugerindo desta forma que não houve contaminação dos mostos por bactérias acéticas.

Segundo Peynaud (1982), as leveduras não necessitam de acidez para se multiplicarem e apresentarem melhor desempenho. As leveduras *Saccharomyces cerevisiae* fermentam os açúcares em meio neutro ou pouco ácido e trabalham melhor em pH 4,0 do que pH 3,0. No entanto,

com valor de pH muito baixo, formam mais acidez volátil. O valor médio do pH dos mostos foi de $3,30 \pm 0,09$ (Tabela 5), o que o torna favorável a ação das bactérias lácticas sobre o ácido málico (que são mais ativas em pH de 3,23). No presente estudo, a conversão do ácido málico em láctico não é desejável visto que se busca um produto com mais frescor.

Os resultados obtidos a partir dos mostos indicaram que as cultivares selecionadas estavam com adequados estágios de maturação, com as concentrações de açúcares redutores totais variando entre 141,63 a 103,68 g.L^{-1} e densidade variando de 1,060 a 1,043 (Tabela 5). Apesar de a acidez total estar abaixo dos valores para a elaboração de sidra de qualidade, esses dados forneceram subsídios importantes para a próxima etapa de obtenção de fermentado base, pois a acidez pode ser corrigida.

Tabela 5 - Análises físico-químicas do mosto das cultivares de maçãs selecionadas.

Cultivar	°Brix	Densidade (g.L^{-1})	Açúcares Redutores Totais (g.L^{-1})	Álcool Teórico (% V/V)	Acidez Total (mEq.L^{-1})*	Acidez Volátil (g.L^{-1})**	pH
Joaquina	13,2 ^a	1,052 ^c	125,88 ^e ±0,11	7,41 ^e ±0,00	30,46 ^e ±0,28	0,65 ^b ±0,02	3,22 ^d ±0,01
Sansa	14,0 ^a	1,044 ^d	108,16 ^f ±0,08	6,36 ^d ±0,00	42,85 ^b ±0,28	0,50 ^c ±0,01	3,29 ^d ±0,01
Imperatriz	13,0 ^a	1,043 ^d	105,39 ^e ±0,08	6,20 ^e ±0,00	41,78 ^{cd} ±0,28	0,62 ^b ±0,02	3,20 ^d ±0,01
Imperial Gala	12,0 ^a	1,043 ^d	102,85 ^b ±0,19	6,05 ^b ±0,01	44,12 ^{cd} ±0,00	0,42 ^d ±0,02	3,31 ^b ±0,00
Daiane	13,0 ^a	1,054 ^b	127,82 ^b ±0,05	7,52 ^b ±0,00	43,72 ^{bc} ±0,38	0,72 ^a ±0,01	3,19 ^d ±0,01
Fred Hough	14,0 ^a	1,043 ^d	103,68 ^b ±0,04	6,10 ^b ±0,00	41,35 ^d ±0,28	0,53 ^c ±0,01	3,34 ^b ±0,00
Condessa	15,0 ^a	1,044 ^d	104,35 ^f ±0,08	6,14 ^c ±0,01	43,78 ^{bc} ±0,28	0,65 ^b ±0,01	3,34 ^b ±0,01
Fuji	14,0 ^a	1,060 ^a	141,63 ^a ±0,06	8,33 ^a ±0,00	43,52 ^{bc} ±0,28	0,37 ^d ±0,00	3,45 ^a ±0,00

Valores expressos como média \pm desvio padrão, quando observado desvio padrão, para determinações realizadas em triplicata. *Expresso em g.L^{-1} de ácido tartárico. **Expresso em g.L^{-1} de ácido acético. Médias seguidas das mesmas letras, nas colunas, não diferem entre as variedades pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

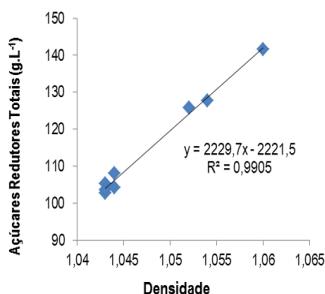


Figura 18 – Correlação entre açúcares redutores totais e densidade dos mostos das maçãs selecionadas.

4.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DAS SIDRAS BASE

As sidras base foram mantidas em temperatura de $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ para a estabilização e clarificação durante 30 dias até serem submetidas ao processo da segunda fermentação na garrafa. Os resultados das análises físico-químicas das sidras base para acidez total e volátil, ácido málico e pH estão demonstrados na Tabela 6.

A acidez total foi expressa em ácido málico, por ser o ácido orgânico majoritário na maçã, como é preconizado. No entanto, observou-se que houve um aumento da acidez total durante o processo de elaboração das sidras que pode ser de acordo com a formação do ácido carbônico através da fermentação (ANGIOLETTO, 2013). As bases com maior valor médio foram as cv. Condessa ($78,63\text{ mEq.L}^{-1}$) e Daiane ($78,23\text{ mEq.L}^{-1}$). Para que fosse possível a padronização da acidez total para todas as bases foi acrescentado *Mix-acid* [ácido málico (36%) e ácido láctico (32%)] em proporções diferenciadas para que todas atingissem 90 mEq.L^{-1} em ácido málico.

O maior valor médio para acidez volátil apresentado foi a da cv. Condessa, como já demonstrado na análise dos mostos. Apesar de novamente ser detectada a presença de acidez volátil, esses resultados ainda são considerados aceitáveis, uma vez que o valor máximo para acidez volátil de qualidade para a sidra é de até $1,5\text{ g.L}^{-1}$ ou 20 mEq.L^{-1} . (BRASIL, 2009).

Para análise de pH a média das bases foi $3,41\pm 0,06$ como demonstra a Tabela 6. As densidades das bases apresentaram diferença significativa ($p<0,05$). O valor médio das amostras foi de 0,9993, sendo a base da cv. Joaquina a que apresentou menor valor médio. Para análise dos açúcares redutores totais não houve diferença significativa ($p<0,05$) apenas entre as cv. Fuji, Fred Hough, e Sansa. Conforme pode ser observado na Tabela 6, a base da cv. Condessa apresentou um valor de açúcar redutor total e densidade mais elevada que as demais sidras base. Isso demonstra que houve suspensão do processo fermentativo e algumas são as causas que podem explicar: presença excessiva de álcool ou acidez acética (age como inibidor); estirpe de levedura inadequada (baixa resistência ao álcool); mudança descontrolada de temperatura; carência de nutriente ou oxigênio (a falta de oxigênio pode ocorrer na fase lag, a qual é caracterizada pela adaptação e multiplicação das leveduras). No entanto, como pode ser observado, através das análises, não houve excesso de álcool ou de acidez volátil, demonstrando não ter sido esse o fator responsável pela parada de fermentação. As leveduras utilizadas eram capazes de suportarem gradação alcoólica de até 14

°GL; e a temperatura de fermentação foi controlada. Os fatores que podem ter sido causadores da parada de fermentação são a carência de nutriente e de oxigênio, visto que esses dois parâmetros não foram controlados, portanto novos estudos precisam ser realizados.

Com relação a produção de álcool, como se pode observar na Figura 20, as fermentações das cultivares Sansa, Imperatriz, Imperial Gala, Daiane, Fred Hough e Condessa apresentaram um bom desempenho da levedura que consumiu em média 15,53 g.L⁻¹ de açúcar para formação de 1 °GL, enquanto que a média é de 17g.L⁻¹ de açúcar para conversão de 1 °GL, tornando-as economicamente favoráveis. Essas fermentações apresentaram graduação alcoólica real superior ao grau alcoólico que se esperava (álcool teórico). As cultivares Joaquina e Fuji não apresentaram bom desempenho na fermentação com essa levedura. Perante as análises realizadas, essa eficiência na fermentação não pode ser explicada, mas a composição nutritiva das cultivares pode ter influenciado. Novos estudos precisam ser realizados pra que esses fatores possam ser esclarecidos.

Nogueira et al. (2007) em seus estudos com vinho de maçã, obtiveram valores superiores de graduação alcoólica [7,17 e 7,42% (V/V)] quando comparados ao valor médio das bases do presente estudo que foi de 6,96% (V/V)±0,55.

Tabela 6 - Análises físico-químicas das sidras base.

Cultivar	Densidade (g.L ⁻¹)	Açúcares Redutores Totais (g.L ⁻¹)	Álcool (% V/V)	Acidez Total (mEq.L ⁻¹)	Acidez Volátil (g.L ⁻¹)	pH
Joaquina	0,9973 ^d	6,27 ^e ±0,03	6,65 ^{de} ±0,07	53,84 ^g ±0,00	0,13 ^d ±0,01	3,31 ^e ±0,01
Sansa	0,9975 ^{cd}	7,63 ^c ±0,03	7,10 ^b ±0,00	63,78 ^f ±0,28	0,24 ^b ±0,00	3,45 ^b ±0,01
Imperatriz	0,9986 ^b	6,12 ^f ±0,00	6,50 ^e ±0,00	69,77 ^d ±0,09	0,07 ^e ±0,01	3,36 ^d ±0,00
Imperial Gala	0,9986 ^b	6,80 ^d ±0,04	6,85 ^c ±0,07	71,57 ^e ±0,00	0,21 ^{bc} ±0,00	3,43 ^b ±0,00
Daiane	0,9986 ^b	9,62 ^b ±0,02	8,20 ^a ±0,00	78,23 ^a ±0,19	0,20 ^{bc} ±0,01	3,40 ^c ±0,00
Fred Hough	0,9985 ^{bc}	7,58 ^c ±0,01	6,55 ^e ±0,07	64,90 ^e ±0,00	0,24 ^b ±0,02	3,40 ^c ±0,00
Condessa	1,0067 ^a	23,16 ^a ±0,04	6,80 ^{cd} ±0,00	78,63 ^a ±0,28	0,31 ^a ±0,01	3,51 ^a ±0,01
Fuji	0,9984 ^{bc}	7,58 ^c ±0,03	7,15 ^b ±0,07	73,31 ^b ±0,00	0,18 ^c ±0,01	3,45 ^b ±0,01

Valores expressos como média ± desvio padrão, quando observado desvio padrão, para determinações realizadas em triplicata. *Expresso em g.L⁻¹ de ácido tartárico. **Expresso em g.L⁻¹ de ácido acético. Médias seguidas das mesmas letras, nas colunas, não diferem entre as cultivares pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

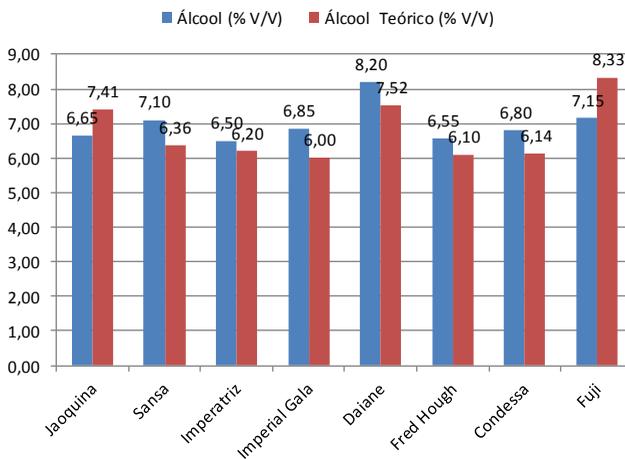


Figura 19 – Comparativo entre graduação alcoólica (gerada na fermentação) e teórica (cálculo a partir da concentração de açúcares redutores totais presentes no mosto).

As bases das cv. Condessa e Fuji não seguiram para a próxima etapa pelo fato de que a cv. Condessa apresentou estagnação no processo de fermentação já a cv. Fuji por não dispor de material suficiente em consequência de perdas ocorridas durante a elaboração. Para as demais bases acrescentou-se 24 g.L^{-1} de sacarose para a etapa da segunda fermentação, objetivando a formação de 6 atm de pressão conforme metodologia *Champenoise* descrita por Lona (1997).

4.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DAS SIDRAS

Após a segunda fermentação, realizada com leveduras livres e encapsuladas, as sidras foram submetidas ao processo de degola. Como esperado a acidez total das sidras, todas apresentaram aumento da concentração em relação às bases, fato decorrente principalmente pela adição do *Mix-acid* antes da segunda fermentação. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre a maioria das sidras, para essa análise, sendo as sidras elaboradas pela cv. Daiane as que apresentaram maior valor médio. No entanto quando se faz a comparação entre o uso de leveduras livres e encapsuladas, as sidras da cv. Daiane e cv. Imperial Gala apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), sendo as sidras elaboradas com leveduras livres as que apresentaram maior média (Tabela 7).

A acidez volátil (Tabela 7) apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre as sidras, no entanto, os valores foram satisfatórios, pois não atingiram o valor máximo permitido pela legislação, comprovando mais uma vez não ter ocorrido contaminação por bactérias acéticas durante o processo.

Para o parâmetro de ácido málico verifica-se que houve diferença significativa apenas entre as sidras elaboradas pela cv. Imperial Gala quando comparado a fermentação com leveduras livres e encapsuladas, sendo as sidras inoculadas com levedura livre as que apresentaram maior valor médio. Nas demais sidras as fermentações por leveduras livres e encapsuladas não diferiram entre a mesma cultivar (Tabela 7).

Para o parâmetro de pH (Tabela 7) houve diferença significativa com relação a mesma cultivar nas fermentações com leveduras livres e encapsuladas para as sidras inoculadas com cv. Daiane e Fred Hough, sendo as sidras inoculadas com leveduras livres as que apresentaram maior valor médio.

Analisando as densidades das amostras observa-se que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as sidras das cv. Sansa, Imperatriz, Imperial Gala e Fred Hough quando comparada as fermentações entre leveduras livres e encapsuladas. Com relação ao açúcar redutor total houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as sidras, sendo a cv. Sansa inoculada com levedura encapsulada a que apresentou maior valor (Tabela 7). Analisando esses dois atributos e comparando-os com os resultados obtidos anteriormente, das bases para as sidras, percebe-se que o açúcar adicionado na etapa anterior para a realização da segunda fermentação, foi praticamente todo consumido.

Os valores médios observados (Tabela 7) de açúcares redutores totais foram de $7,09 \pm 0,84$ diferindo do preconizado para sidra brasileira que não apresenta subclassificações, mas que em média é de 75-100 g.L^{-1} (NOGUEIRA et al, 2003), caracterizando um produto diferenciado.

No entanto se compararmos esses valores obtidos com os novos padrões estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, para o percentual de açúcar nos vinhos espumantes brasileiros, esses produtos se enquadram na categoria de produto *brut* (8 à 15 g.L^{-1}) (BRASIL, 2014). Comparando com as sidras de Astúrias são designadas sidras secas (*dry*) onde seu conteúdo de açúcar é menor que 20 g.L^{-1} (MADRERA et al., 2008).

Os valores de teor alcoólico encontrado nas sidras estão entre 8,05 e 8,80% (V/V) (Tabela 7), demonstrando estarem fora dos padrões da legislação brasileira para sidra. No entanto esses valores estão em acordo com a legislação europeia das “Sidras das Astúrias”, elaboradas

pelo método tradicional (*Champenoise*), o qual determina que a graduação alcoólica seja superior a 5,0% (V/V) (ABRADO et al., 2005; MADRERA et al., 2008; BLANCO-GOMES et al.; 2009).

Para a obtenção da pressão presente nas sidras, adicionou-se 24 g.L⁻¹ de açúcar nas bases, para formação de 6 atm de pressão. Como pode ser observado, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as sidras. No entanto, as sidras elaboradas com as cultivares Imperial Gala e Daiane, fermentadas com leveduras encapsuladas apresentaram valores superiores de pressão do que as sidras elaboradas com essas mesmas cultivares, mas fermentadas com leveduras livres. Isso demonstrou que tanto para as sidras elaboradas com a cv. Imperial Gala, quanto para as elaboradas pela cv. Daiane, ambas fermentadas com leveduras encapsuladas, o consumo de açúcar foi menor para a conversão de cada grau alcoólico. Dessa forma, percebe-se que para a segunda fermentação das bases elaboradas por essas cultivares, com leveduras encapsuladas, a quantidade de açúcar a ser adicionado pode ser reduzido.

A espuma é um parâmetro de grande relevância do ponto de vista sensorial, já que esse é o primeiro atributo percebido pelo consumidor. Uma boa formação inicial de espuma na taça, assim que se despeja a sidra, seguida pelo seu desaparecimento, formando pequenas bolhas de gás carbônico, finalmente um resto de espuma fina deve permanecer na taça. É a proteína que contribui para a formação e estabilização da espuma. Essa molécula possui a capacidade de diminuir a tensão interfacial, e aumentar as propriedades viscosas e elásticas do filme, como um resultado de formação de pontes de hidrogênio, interações eletrostáticas e hidrofóbicas (BLANCO-GOMIS et al., 2009; TORRESI et al., 2011). Como pode ser observado na Tabela 7, apenas as sidras elaboradas pela cv. Sansa demonstraram teste negativo de proteína. Perante esse teste, não foi realizada a análise sensorial das mesmas.

Tabela 7 - Análises físico-químicas das sidras.

Cultivar	Levedura	Açúcares		Álcool (% V/V)	Pressão (bar)	Acidez Total (mEq.L ⁻¹)	Acidez Volátil (g.L ⁻¹)	Ácido Málico (g.L ⁻¹)	pH
		Densidade (g.L ⁻¹)	Redutores Totais (g.L ⁻¹)						
Joaquina	Livre	0,996	5,43	8,6	5,2	89,60 ^{af} ±0,35	0,25 ^{af} ±0,01	2,94±0,06	3,20 ^{af} ±0,01
	Encapsulada	0,996	5,66	8,63	5,5	90,10 ^{af} ±0,24	0,20 ^{af} ±0,01	2,85±0,04	3,18±0,01
Sansa	Livre	0,9982	7,84	8,63	5,7	108,99 ^{bc} ±0,25	0,33 ^{bc} ±0,02	3,87±0,04	3,32 ^{bc} ±0,02
	Encapsulada	0,9982	7,96	8,63	5,9	108,33 ^{bc} ±0,30	0,27 ^{abc} ±0,01	3,87±0,05	3,31 ^c ±0,01
Imperatriz	Livre	0,9984	7,39	8,2	5,8	107,00 ^{bc} ±0,31	0,27 ^{bc} ±0,01	4,36±0,04	3,26 ^d ±0,01
	Encapsulada	0,9984	7,66	8,2	6,6	106,46 ^{bc} ±0,20	0,23 [±] 0,01	4,34±0,03	3,25 ^d ±0,00
Imperial Gala	Livre	0,9983	6,52	8,1	5,8	104,26 ^d ±0,23	0,30 ^{bc} ±0,01	4,82±0,08	3,34 ^{ab} ±0,00
	Encapsulada	0,9982	6,66	8,05	5,3	96,93 ^{cd} ±0,17	0,31 ^{ab} ±0,04	4,71 ^b ±0,08	3,34 ^{ab} ±0,01
Daiane	Livre	0,9973	7,2	8,5	5,7	115,29 ^d ±0,19	0,29 ^{bd} ±0,01	4,17 ^d ±0,04	3,27 ^d ±0,01
	Encapsulada	0,9974	7,59	8,8	6,4	110,16 ^{ab} ±0,13	0,28 ^{cd} ±0,01	4,14 ^d ±0,01	3,22 ^c ±0,03
Fred Hough	Livre	0,9983	7,52	8,5	5,5	100,00 ^d ±0,13	0,25 ^{ef} ±0,01	4,90±0,03	3,34 ^{ab} ±0,00
	Encapsulada	0,9983	7,62	8,48	5,4	100,43 ^d ±0,17	0,23 [±] 0,01	4,81 [±] 0,03	3,31 ^c ±0,01

Valores expressos como média ± desvio padrão, quando observado desvio padrão, para determinações realizadas em triplicata. *Expresso em g.L⁻¹ de ácido tartárico. **Expresso em g.L⁻¹ de ácido acético. Médias seguidas das mesmas letras, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 8 - Teste de proteína das sidras.

Cultivar	Levedura	Teste de Proteína	Cultivar	Levedura	Teste de Proteína
Joaquina	Livre	Positivo	Imperial Gala	Livre	Positivo
	Encapsulada	Positivo		Encapsulada	Positivo
Sansa	Livre	Negativo	Daiane	Livre	Positivo
	Encapsulada	Negativo		Encapsulada	Positivo
Imperatriz	Livre	Positivo	Fred Hough	Livre	Positivo
	Encapsulada	Positivo		Encapsulada	Positivo

O teste resultou positivo quando houve o aparecimento de nuvens ou pequenos grumos na amostra.

4.4 ANÁLISE SENSORIAL DAS SIDRAS

Na avaliação sensorial da qualidade das sidras os atributos para sensação visual, olfativa e gustativa foram avaliados. As notas médias atribuídas pelos julgadores não apresentaram diferença significativa à nível de 5% probabilidade para todos os atributos, no entanto alguns atributos puderam ser destacados tais como apresentados na Tabela 9 e Figura 20.

Os atributos efervescência e persistência da espuma contribuem positivamente para qualidade das sidras. O tamanho pequeno da borbulha, seu desprendimento contínuo e a presença persistente de uma coroa de borbulhas na superfície são qualidades visuais e gustativas que potencializam as sensações aromáticas presentes na sidra

(BEDRIÑANA, 2011). A Tabela 9 está demonstrando os valores dos atributos das sidras elaboradas com as cultivares Joaquina, Daiane, Fred Hough e Imperial Gala, inoculadas com leveduras livres e encapsuladas. Para os atributos perlage e efervescência, a sidra elaborada com cv. Daiane inoculada com levedura encapsulada foi a que apresentou os maiores valores médio (7,0 e 6,5 respectivamente), enquanto para o atributo espuma a cv. Joaquina inoculada com levedura encapsulada foi a que mais agradou os julgadores (6,5).

Em se tratando da coloração das sidras, a análise foi realizada em função do critério de tonalidade o qual variou de amarelo palha ao amarelo ouro. A sidra que apresentou pontuação mais próxima do amarelo palha foi a elaborada com cv. Fred Hough (3,0), enquanto a que recebeu pontuação próxima da tonalidade amarelo ouro foi a cv. Daiane (7,5), ambas inoculadas com levedura encapsulada (Tabela 9).

Aroma e sabor são os fatores de grande importância na qualidade das bebidas alcoólicas, e são relacionados com o processo de fabricação (ANTÓN et al., 2014). A análise sensorial para sensação olfativa, a sidra apresentou aroma primário, nítido da fruta e aroma secundário, característico da fermentação com as leveduras. O aroma frutado ficou mais presente nas sidras elaboradas por duas cultivares: cv. Joaquina inoculada com levedura encapsulada e cv. Imperial Gala inoculada com levedura livre (6,0). O aroma de fermento foi mais percebido na cv. Joaquina inoculada com levedura encapsulada (4,5) (Tabela 9).

Na boca, a sidra deve apresentar gosto franco, mas não desagradável ou ruim, as sensações gustativa devem estar equilibradas. A adstringência e o amargor são atributos, quando de sua presença, contribuem negativamente para qualidade do produto. Neste estudo, a sidra elaborada com cv. Imperial Gala inoculada com levedura encapsulada foi a que apresentou as menores pontuações para esses atributos (3,0 e 2,0 respectivamente). Ainda para a adstringência a sidra elaborada com cv. Daiane pela levedura encapsulada também apresentou pontuação baixa (3,0) (Tabela 9).

A acidez é um atributo que proporciona sensação de frescor, no entanto seu excesso pode prejudicar a qualidade do produto. A sidra que apresentou melhor equilíbrio na acidez foi a elaborada com cv. Joaquina inoculada com levedura encapsulada (4,5) (Tabela 9).

O corpo expressa as sensações de gosto e olfato juntas e sua persistência representa um produto de qualidade. A sidra que recebeu a melhor pontuação para esse atributo foi a da cv. Joaquina inoculada com levedura encapsulada (5,5) (Tabela 9).

Impressão global de cada amostra está expressa na Tabela 9. Para esse atributo as sidras que apresentaram a melhor pontuação foram a da cv. Joaquina inoculada com levedura encapsuladas e a cv. Fred Hough inoculada com levedura livre.

Tabela 9 - Análise sensorial das sidras.

Atributos	Cultivar	Joaquina		Daiane		Fred Hough		Imperial Gala	
	Levedura	Livre	Encapsulada	Livre	Encapsulada	Livre	Encapsulada	Livre	Encapsulada
	Perlage	6,0±1,0	6,5±1,4	6,5±1,7	7,0±1,1	5,5±1,2	6,5±1,0	6,5±2,1	5,5±1,2
Sensação	Efervescência	6,0±0,8	6,0±1,3	5,0±1,2	6,5±0,9	6,0±1,5	4,0±1,6	4,5±1,5	6,0±1,0
Visual	Espuma	4,5±1,9	6,5±1,8	5,0±1,8	4,0±1,8	3,5±1,8	3,0±1,3	4,5±2,4	4,0±1,7
	Cor	4,0±1,5	4,0±1,9	6,0±1,3	7,5±1,9	4,0±2,1	3,0±1,6	5,5±1,7	5,5±1,5
Sensação	Frutado	5,0±1,7	6,0±2,4	5,0±1,7	5,5±1,2	5,5±1,2	5,0±1,6	6,0±1,7	4,5±1,4
Olfativa	Fermento	3,5±1,4	4,5±1,7	3,0±1,1	3,5±1,7	4,0±1,7	4,0±1,6	3,5±1,6	4,0±1,4
	Adstringência	4,0±1,0	4,0±1,3	4,0±1,0	3,0±1,4	4,0±1,3	4,0±1,3	4,0±1,3	3,0±0,7
Sensação	Amargor	3,5±2,1	3,0±1,8	4,0±1,1	4,5±1,9	3,5±1,7	4,5±1,8	3,5±0,8	2,0±1,4
Gustativa	Acidez	4,0±1,1	4,5±1,2	3,0±1,0	3,5±1,3	3,5±1,0	3,5±1,7	6,0±1,2	3,5±0,6
	Corpo	4,0±1,3	5,5±1,7	4,0±1,4	4,5±1,3	5,0±1,3	4,0±2,0	5,0±1,7	4,0±1,6
	Impressão Global	5,5±1,4	6,0±1,9	3,5±1,3	4,5±1,3	6,0±0,9	5,5±1,2	5,0±1,2	4,5±0,8

Valores expressos como média \pm desvio padrão, para determinações realizadas em triplicata.

A Figura 20A mostra as principais médias dos atributos avaliados, com caráter positivo para qualidade da sidra elaborada com a cv. Joaquina. Pode-se observar que para cv. Joaquina inoculada com leveduras encapsulada os atributos com maior média foram perlage (6,5), espuma (6,5), frutado (6,0), fermento (4,5), corpo (5,5) e impressão global (6,0). O atributo acidez apresentou-se equilibrada (4,5), enquanto amargor apresentou valor baixo (3,0). O atributo efervescência e cor não foram observados diferenças ente as sidras inoculadas com leveduras livres e encapsuladas, quando avaliados pelos julgadores.

A Figura 20B mostra as principais médias dos atributos avaliados, com caráter positivo para qualidade da sidra elaborada com a cv. Daiane. Pode-se observar que para cv. Daiane inoculada com levedura encapsulada os atributos com maior média foram perlage (7,0), efervescência (6,5), frutado (5,5), fermento (3,5), corpo (4,5) e impressão global (4,5). Para o atributo adstringência apresentou a menor média (3,5). O atributo cor apresentou-se próximo da coloração ouro (7,5). O atributo de caráter positivo para cv. Daiane inoculada com levedura livre foi espuma (5,0).

A Figura 20C mostra as principais médias dos atributos avaliados, com caráter positivo para qualidade da sidra elaborada com a cultivar Fred Hough. Pode-se observar que para cv. Fred Hough

inoculada com levedura livre os atributos com maior média foram efervescência (6,0), espuma (3,5), frutado (5,5), corpo (5,0) e impressão global (6,0). Enquanto o de menor média, com caráter positivo, foi amargor (3,5). Para os atributos frutados, adstringência e acidez não foram observadas diferenças entre as sidras elaboradas pela cultivar Fred Hough inoculadas com leveduras livres e encapsuladas. Para o atributo cor, a sidra inoculada com levedura encapsulada mostrou caráter mais próximo da coloração palha (3,0).

A Figura 20D mostra as principais médias dos atributos avaliados, com caráter positivo para qualidade da sidra elaborada com a cv. Imperial Gala. Pode-se observar que para cv. Imperial Gala inoculada com leveduras livres os atributos com maior média foram perlage (6,5), espuma (4,5), frutado (6,0), corpo (5,0) e impressão global (4,5). No entanto, quando avaliado a sidra inoculada com leveduras encapsuladas os atributos com maior médias foram efervescência (6,0) e fermento (4,0). Os atributos adstringência e amargor para serem avaliados como caracteres positivos para qualidade da sidra devem ser atribuídos menores notas, pois valores maiores podem ser considerados depreciativos da qualidade. O atributo acidez deve apresentar pontuação média (4,5) para ser avaliado como caráter positivo de qualidade. Valores abaixo proporcionam baixo frescor no produto enquanto que valores acima representam acidez excessiva. Para o atributo cor não foi observado diferença entre as sidras inoculadas com leveduras livres e encapsuladas, quando avaliados pelos julgadores.

Contudo, com base nas análises pode-se observar que a sidra que mais se destacou em relação aos atributos avaliados pelos julgadores, foi a elaborada com a cv. Joaquina inoculada com levedura encapsulada.

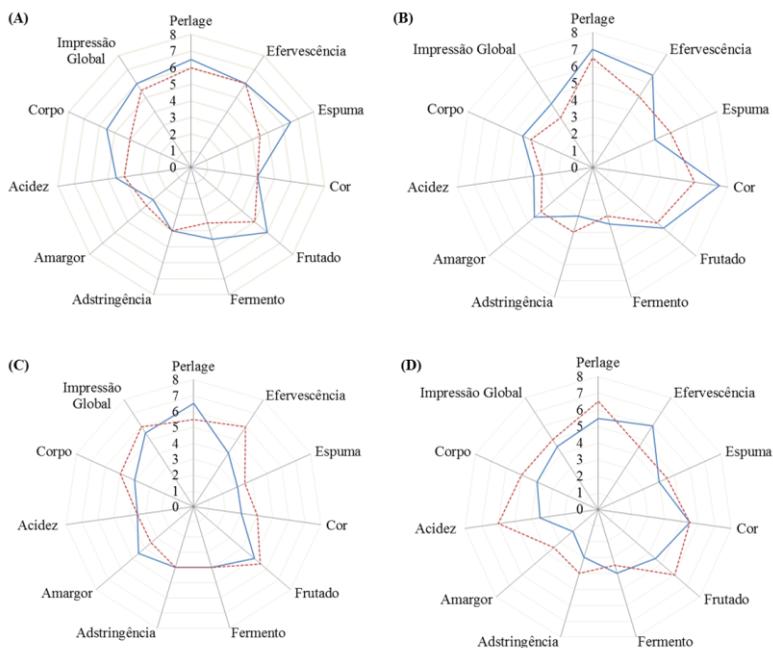


Figura 20 - Representação dos valores médios dos descritores sensoriais das sidras elaboradas com as cultivares (A) Joaquina, (B) Daiane, (C) Fred Hough e (D) Imperial Gala. Linhas pontilhadas representam as médias das sidras inoculadas com as leveduras livres; linhas cheias representam as médias das sidras inoculadas com as leveduras encapsuladas.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o presente estudo, podemos concluir que as maçã industriais analisadas não apresentam o valor mínimo de acidez segundo a classificação de maçãs destinadas a produção de sidras em países europeus. No entanto, essa insuficiência de acidez pode ser solucionada, adicionando produtos que ajustem esse parâmetro.

Na análise sensorial os resultados indicam que todas as sidras apresentaram resultados de qualidade, no entanto a sidra elaborada pela cv. Joaquina com levedura encapsulada apresentou destaque na maioria dos atributos.

Contudo pode-se concluir que as maçãs desclassificadas para o consumo *in natura* podem servir como matéria-prima para um produto de alta qualidade, inovando o mercado brasileiro de bebidas e valorizando as maçãs industriais. A metodologia *Champenoise*, utilizada para elaborar sidras de boa qualidade nos países europeus e utilizada para elaborar excelentes vinhos espumantes no Brasil é uma ótima alternativa para a elaboração de sidras. E a refermentação com o uso de leveduras encapsuladas é uma proposta de grande relevância para o desenvolvimento de estudos futuros já que podem diminuir a mão-de-obra e eliminar a etapa de “remuage”, não comprometendo a qualidade do produto final.

6 REFERÊNCIAS

ABRODO, P. A.; CABRALES, I. M.; ALONSO, J. J. M.; BLANCO-GOMES, D. Fatty acid composition of cider obtained either by traditional or controlled fermentation. **Food Chemistry**, v. 92, p. 183-187, 2005.

ALBUQUERQUE Jr., C. L. de; DENARDI, F.; DANTAS, A. C. de M.; NODARI, R. O. Número de antera por flor, grãos de pólen por antera e capacidade germinativa do pólen de diferentes cultivares de macieira. Comunicação Científica. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 32, n. 4, p. 1255-1260, 2010.

ALONSO-SALCES, R. M.; GUYOT, S.; HERRERO, C.; BERRUETA, L. A.; DRILLEAU, J-F; GALLO, B.; VICENTE, F. Chemometric classification of Basque and French ciders based on their total polyphenol contents and CIELab parameters. **Food Chemistry**. v. 91, p. 91-98, 2005.

ANGIOLETTO; E. Isolamento e caracterização de leveduras para produção de sidra. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2013.

ANTÓN, M. J.; VALLES, B. S.; HEVIA, A. G.; LOBO, A. P. Aromatic profile of ciders by chemical quantitative, gas chromatography-olfactometry, and sensory analysis. **Journal of Food Science**. v. 79, n. 1, 2014.

BARBOSA, C. R.; ROSSI, A. A.; BASSO, R.; SILVA, M. B.; CARVALHO, G. B. M. de. Avaliação da suplementação com nutrientes na fermentação do suco de maçã por *Saccharomyces cerevisiae*. **Revista Analytica**, n. 31, p. 52-63, 2007.

BATISTA, M. de A. Estudo da imobilização de células de *Saccharomyces cerevisiae* em gel de cálcio no processo de fermentação alcoólica. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG, 2005.

BEDRIÑANA, R. P.; Selección de levaduras para la elaboración de sidras naturales espumosas por el método tradicional o “Champenoise” (y II). **Tecnología Agroalimentaria**. n.10, 2011. Verificar se foi usado

BEECH, F. English cidermaking: technology, microbiology and biochemistry. *Progress in Industrial Microbiology*, v.11, p.133-213, 1972.

BITTENCOURT, C. C., MATTEI, L. F. Panorama da cadeia da maçã no estado de Santa Catarina: Algumas evidências no segmento da produção. Em: II Encontro de Economia Catarinense. Chapecó, Santa Catarina, Brasil, 14p, 2008.

BLANCO-GOMIS, D.; MANGAS-ALONSO, J.J.; JUNCO-CORUJEDO, S.; GUTIÉRREZ-ÁLVAREZ, M^a D. Characterisation of sparkling cider by the yeast type used in taking foam on the basis of polypeptide content and foam characteristics. **Food Chemistry**. v. 115, p. 375-379, 2009.

BRAGA, C.M., ZIELINSKI, C.A.F., SILVA, K.M.d., SOUZA, F.K.F., PIETROWSKI, G.d.A., COUTO, M., GRANATO, D., WOSIACKI, G., NOGUEIRA, A. Classification of juices and fermented beverages made from unripe, ripe and senescent apples based on the aromatic profile using chemometrics, **Food Chemistry**. v. 141 (2) p. 967-979, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. **Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas**. Diário Oficial da União, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 8.198 de 20 de fevereiro de 2014. **Regulamenta a Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho**. Diário Oficial da União, 2014.

CARVALHO, J. R. F. de; SILVA, K. M. da; SIMÕES, D. R. S.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Elaboração de fermentado frisante de maçã com características semelhantes à sidra francesa. **B. CEPPA, Curitiba**, v. 28, n. 1, p. 97-114, 2010.

CARVALHO, J. R.; SILVA, K. M. da; BRAGA, C. M.; ALBERTI, A.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Efeito da clarificação com gelatina no teor de compostos fenólicos e na atividade antioxidante de fermentado de maçã. **Braz. J. Food Technol.** Campinas, v. 14, n. 1, p. 41- 49, 2011.

CEYMAN, M.; ARRIGONI, E.; SCHÄRER, H.; NISING, A.B.; HURRELL, R.F. Identification of apples rich in health-promoting flavan-3-ols and phenolic acids by measuring the polyphenol profile. **Journal of Food Composition and Analysis.** v. 26, p. 128-135, 2012.

CLARKE, R.J.; BAKKER, J. **Wine Flavour Chemistry.** Ed. Blackwell Publishing Ltd, 339p, 2004.

COVIZZI, L. G.; GIESE, E. C.; GOMES, E.; DEKKER, R. F. H.; SILVA, R. da; Imobilização de células microbianas e suas aplicações biotecnológicas. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*, Londrina, v. 28, n. 2, p. 143-160, jul./dez. 2007.

CZELUSNIAK, C.; OLIVEIRA, M.C.S.; NOGUEIRA, A.; SILVA, N.C.C.; WOSIACKI, G. Qualidade de maçãs comerciais produzidas no Brasil: aspectos físicos-químicos. **Brazilian Journal of Food Technology**, São Paulo, v. 6, p. 25-31, 2003.

DEMOLINER, F. **Avaliação de dois métodos analíticos de determinação de dióxido de enxofre livre.** Trabalho de conclusão do Curso de Tecnólogo em Viticultura e Enologia. Bento Gonçalves, RS, 2008.

DIERINGS, L. R. **Abordagem microbiológica da fermentação oxidativa, alcoólica e malolática no processo da sidra.** Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa - PR, 2008.

DRILLEAU, J. F. Consolider les connaissances et maîtriser la qualité du produit fini. **Pomme**, [S.l.], n. 23, p. 23-25, 1991.

DUTCOSKY, S.D. **Análise Sensorial de Alimentos.** 2ª ed. Curitiba: Champagnat. 239p, 2007.

FERTONANI, H. C. R.; SIMÕES, D. R. S.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Potencial da variedade Joaquina para o processamento

de suco clarificado e vinho seco de maçã. **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas**, v. 26, n. 2, p. 434-440, 2006.

GRAINGER K.; TATTERSALL, H. **Wine Production: Vine To Bottle**. Food Industry Briefing Series. Editorial Offices: Blackwell Publishing Ltd., 2005.

HASHIZUME, T. Sidra. Em Aquarone, E; Borzani, W.; Schmidel, W.; Lima, U. de A. (Coord.) **Biotecnologia Industrial**. V. 4. **Biotecnologia na Produção de alimentos**. 1ª ed. Ed. Edgard Blucher. 544p, 2001.

HERRERO, M.; GARCÍA, L. A.; DÍAZ, A.. The effect of SO₂ on the production of etanol, acetaldehyde, organic acids, and flavor volatiles during industrial cider fermentation. **J. Agric. Food Chem.** v. 51, p. 3455-3459, 2003.

HORNSEY, I. **The Chemistry and Biology of Winemaking**. RSCP Publishing, 472p, 2007.

JACKSON, R. S. **Wine Science – Principles and applications - Third edition**. Elsevier, 2008.

JANZANTTI, N. S.; FRANCO, M. R. B.; WOSIACKI, G. Efeito do processamento na composição de voláteis de suco clarificado de maçã fuji. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 23, n. 3, p. 523-528, 2003.

KELKARA, S. and DOLANA, K. Modeling the effects of initial nitrogen content and temperature on fermentation kinetics of hard cider. **Food Engineering**. v. 109, p. 588–596, 2012.

LOBO, A. P.; GARCÍA, Y. D.; SÁNCHEZ, J. M.; MADRERA, R. R.; VALLES, B. S. Phenolic and antioxidante composition of cider. *Journal of Food Composition and Analysis*. v. 22, p. 644-648, 2009.

LONA, A. A. **Vinhos: degustação, elaboração e serviço**. Ed. Age Ltda. 2ª ed. Porto Alegre, RS, 1997.

MADRERA, R.R.; HEVIA, A.G.; GARCÍA, N.P.; VALLES, B.S. (2008). Evolution of aroma compounds in sparkling ciders. **LWT – Food Science and Technology**. v.41, p. 2064-2069, 2008.

MADRERA, R.R.; LOBO, A.P.; ALONSO, J.J.M. Effect of cider maturation on the chemical and sensory characteristics of fresh cider spirits. **Food Research International**. v. 43, p. 70–78, 2010.

MORENO-ARRIBAS, M. V.; POLO, M. C. Wine Chemistry and Biochemistry. Springer Science e Business Media, LLC. 735p. 2009.

NOGUEIRA, A. **Tecnologia de processamento sidrícola efeito do oxigênio e do nitrogênio na fermentação lenta da sidra**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

NOGUEIRA, A.; ALBERTI, A; DANTAS, A. P.; MONGRUEL, C.; WOSIACKI, G. Influencia da cepa de *Saccharomyces cerevisiae* na cinética de fermentação do vinho de maçã. **Revista Brasileira de tecnologia Agroindustrial**, v.01, n. 01, p.30-36, 2007b.

NOGUEIRA, A.; MONGRUEL, C.; OLIVEIRA, M. C. de; PASSOS, M.; WOSIACKI, G. Avaliação da trituração e de tratamentos enzimáticos na obtenção de suco de maçã por centrifugação. **UEPG Ci. Exatas Terra, Ci. Agr. Eng.**, Ponta Grossa, PR. v. 11, n. 3, p. 7-12, 2005.

NOGUEIRA, A.; SWIECH, B. de P.; DENARDI, F.; WOSIACKI, G. Características físico-químicas e sensoriais de suco de maçã clarificado e fermentado. Publi. **UEPG Ci. Exatas Terra, Ci. Agr. Eng.**, Ponta Grossa, PR. v. 12, n. 3, p. 15-23, 2006.

NOGUEIRA, A.; TEIXEIRA, S. H.; DEMIATE, I. M.; WOSIACKI, G. Influência do processamento no teor de minerais em sucos de maçã. **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas**, v. 27, n. 2, p. 259-264, 2007a.

NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Sidra. Em VENTURINI FILHO, W. G. (Org.). **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. V.1. Ed. Edgard Blücher, São Paulo v. 1, p. 113-142, 2010.

OLIVEIRA, M.C.S. de. **Avaliação do processo de fermentação alcoólica de suco de maçã obtido por liquefação enzimática**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa – PR, 2006.

PAGANINI, C.; NOGUEIRA, A.; DENARDI, F.; WOSIACKI, G. Análise da aptidão industrial de seis cultivares de maçã, considerando suas avaliações físico-químicas (dados da safra 2001/2002). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 6, p. 1336-1343, 2004.

PETRI, J. L.; HAWERROTH, F. J.; LEITE, G. B. Fenologia de espécies silvestres de macieira como polinizadora das cultivares Gala e Fuji. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal – SP, v. 30. n. 4, p. 868-874, Dezembro, 2008.

PEYNAUD, E. **Conhecer e trabalhar o vinho**. ed. Portuguesa de livros técnicos e científicos. Lisboa, 1982.

PICINELLI, A.; SUÁREZ, B.; MORENO, J.; RODRIGUES, R.; GARCÍA, C.; PANDO, R. M.; BEDRIÑANA; MANGAS, J. J. Técnicas analíticas en el control de calidad y caracterización de la sidra natura Asturiana. **Alimentaria**. p. 129-136, septiembre, 2002.

RITA, R. D-; ZANDA, K., DAINA, K.; DALIJA, S. Composition of aroma compounds in fermented apple juice: effect of apple variety, fermentation temperature and inoculated yeast concentration. **Proccience Food Sience** 1. p. 1709-1716, 2011.

RIZZON, L. A.; BERNARDI, J.; MIELE, A. Características analíticas dos sucos de maçã Gala, Golden Delicious e Fuji. **Ciência e Tecnologia de Alimento**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 750-756, out.-dez, 2005.

RIZZON, L. A.; ZANUZ, M. C.; ABARZUA, C. E. **Elaboração de vinho espumante na propriedade vitícola**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 34p, 2000.

ROZA, C. de la; LACA, A.; GARCÍA, L. A.; DÍAZ, M. Ethanol and ethyl acetate production during the cider fermentation from laboratory to industrial scale. **Process Biochemistry**. v. 38, p. 1451-1456, 2003.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S; SANTANA, A. dos S.; KOBLITZ, G. B. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. Semina: **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SIMÕES, D. R. S. **Abordagem tecnológica e sensorial nos produtos de maçã: suco, fermentado e sidra**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, 2008.

TEIXEIRA, L. V. Análise sensorial na indústria de alimentos. **Ins. Latic. “Cândido Tostes”**. v. 64, n. 366, p. 12-21, 2009.

TEIXEIRA, S. H; TOLENTINO, M. C.; DEMIATE, I. M.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Influência do escurecimento enzimático no perfil iônico de suco de maçãs. **Publi. UEPG Ci. Exatas Terra, Ci. Agr. Eng.**, Ponta Grossa, v. 13, n. 2, p. 55-61, 2007.

TORRESI, S.; FRANGIPANE, M. T.; ANELLI, G. Biotechnologies in sparkling wine production: interesting approaches for quality improvement. **Food Chemistry**, v. 129, n. 3, p. 1232-1241, 2011.

VALDUGA, E. **Bioprodução de compostos voláteis e carotenóides por *Sporidiobolus salmonicolor* CBS 2636**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 2005.

VALLES, B. S.; BEDRIÑANA, R. P.; TASCÓN, N. F.; SIMÓN, A. Q.; MEDRERA, R. R. Yeast species associated with the spontaneous fermentation of cider. **Food Microbiology**. v. 24, p. 25-31, 2007.

VALLES, B. S.; BEDRIÑANA, R. P.; QUEIPO, A. L.; ALONSO, J. J. M. Screening of cider yeasts for sparkling cider production (Champenoise method). **Food Microbiology**. v. 25, p. 690-697, 2008.

ZARDO, D. M.; DANTAS, A. P.; VANZ, R.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A.; Intensidade de pigmentação vermelha em maçãs e sua relação com os teores de compostos fenólicos e capacidade antioxidativa. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n.1, p. 148-154, 2009.

WELSH, F. W. Overview of bioprocess flavor and fragrance production. In: Bioprocess production of flavor, fragrance and color ingredients, edited by Alan Gabelman, 1995.

WOSIACKI, G. e NOGUEIRA, A. Suco de Maça. Em, VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de Bebidas, 1ª ed.** Edgard Blücher, São Paulo, 2005.