

NELCI CATARINA CHIQUETTO SILVA

AVALIAÇÃO DO PROCESSO BIOTECNOLÓGICO E DETERMINAÇÃO DAS
CONDIÇÕES DA DESALCOOLIZAÇÃO DA BEBIDA OBTIDA POR
FERMENTAÇÃO CONTROLADA DE SUCO DE MAÇÃ

Tese apresentada como um dos requisitos à obtenção do grau de Doutor pelo programa de Pós-Graduação em Processos Biotecnológicos Agroindustriais, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Gilvan Wosiacki
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Co-orientador: Prof. Dr. Moacir Kaminski
Universidade Federal do Paraná

CURITIBA
2004

NELCI CATARINA CHIQUETTO SILVA

AVALIAÇÃO DO PROCESSO BIOTECNOLÓGICO E DETERMINAÇÃO DAS
CONDIÇÕES DA DESALCOOLIZAÇÃO DA BEBIDA OBTIDA POR
FERMENTAÇÃO CONTROLADA DE SUCO DE MAÇÃ

Orientador: Prof. Dr. Gilvan Wosiacki
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Co-orientador: Prof. Dr. Moacir Kaminski
Universidade Federal do Paraná

CURITIBA
2004

Ao João Victor, com amor (até passar do céu!)
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelos meus amigos:

Adriana, Alessandro, Ana Cláudia, Ângela, Belinda, Caetano, Caroline, Danianni, Daniele, Denise, Elenise, Elizete, Frigo, Gilvan, Gisele, Ivo, Jean Pierre, Kaminski, Karla, Kica, Lara, Liliane, Lívia, Luciana, Luis Fernando, Magda, Makoto, Manoel, Mara, Maria Carolina, Maria Tereza, Mariza, Nelson, Renato, Ricardo, Rita, Rosângela, Rose, Sílvia, Thaís, Walleyd...

À Agrícola Fraiburgo, CAPES, Casa dos Trabalhadores em Educação – Curitiba, CEFET – Ponta Grossa, EPAGRI, UEPG, UFPr.

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS E FIGURAS.....	III
LISTA DE TABELAS.....	V
ABREVIACÕES	VII
RESUMO	VIII
ABSTRACT	IX
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO	3
2.1 A AGROINDÚSTRIA DA MAÇÃ NO BRASIL	3
2.2 BEBIDA ALCOÓLICA DERIVADA DO PROCESSO FERMENTATIVO DO MOSTO DE MAÇÃ.....	6
2.3 O PROCESSO FERMENTATIVO DO MOSTO DE MAÇÃS	10
2.4 OS PROCESSOS DE DESALCOOLIZAÇÃO	21
2.4.1 Destilação	23
2.4.1.1 Partida	25
2.4.1.2 Retirada de Produtos.....	26
2.4.1.3 Otimização do processo de destilação por cargas.....	27
2.4.1.4 Critério para a definição da razão de refluxo da coluna	27
2.4.1.5 Técnicas específicas de operação.....	28
2.4.2 Desalcoolização com o uso do frio.....	28
2.4.3 Coluna de cones rotativos.....	29
2.4.4 Desalcoolização por membranas	29
2.4.5 Redução dos açúcares fermentescíveis.....	31
2.4.6 Desalcoolização com gases comprimidos.....	32
2.5 VINHOS FORTIFICADOS	33
2.6 ANÁLISE SENSORIAL	33
3 MATERIAL E MÉTODOS	36
3.1 MATERIAL.....	36
3.1.1 Matéria-prima.....	36
3.1.1 Cepas liofilizadas comerciais:	36
3.1.2 Ativadores de fermentação:	37
3.1.3 Enzima.....	37
3.1.4 Produtos utilizados como padrões nos testes de reconhecimento de odores.....	37
3.2 MÉTODOS.....	37
3.2.1 Preparo do suco despectinizado	37
3.2.2 Preparação do inóculo	38
3.2.3 Ensaios de fermentação em escala de laboratório.....	38
3.2.4 Análises	40
3.2.4.1 Crescimento celular.....	40
3.2.4.2 Análises físico-químicas	40
3.2.4.3 Análises cromatográficas	41

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Diferenças nos padrões de identidade e qualidade da sidra em alguns países europeus e no Brasil.....	8
TABELA 2 - Diferentes frações nitrogenadas encontradas no suco de maçãs.....	11
TABELA 3 -Condições dos ensaios de fermentação em escala de laboratório.....	39
TABELA 4 -Composição da solução de referência para a análise de ésteres etílicos de ácidos graxos, acetatos de álcoois superiores, ácidos graxos livres, ácidos graxos voláteis, hexanol-1 e 2 fenil-etanol.....	43
TABELA 5 - Composição da solução de referência para a determinação de etanal, propanol-1, metil2- propanol1, metil2-butanol1, metil3-butanol1, metanol, acetato de etila.....	44
TABELA 6 - Composição em frações molares dos constituintes da mistura base para a simulação.....	49
TABELA 7 - Matriz de ensaios das variáveis: carga térmica (Qt); razão de refluxo (Rr) e número de estágios (Ne) e seus valores codificados (Qt _c , Rr _c e Ne _c).....	49
TABELA 8 - Condições dos ensaios de destilação para desalcoolização da sidra obtida no ensaio de fermentação 5.....	50
TABELA 9 - Características físico-químicas do mosto da maçã industrial da cultivar Belgolden.....	58
TABELA 10 - Concentração de etanol nas sidras obtidas com a cepa <i>Sacchromyces cerevisiae uvarum</i> - Fermol criouaromae.....	60
TABELA 11 - Concentrações de etanal, metanol, 2-fenil etanol e álcoois superiores nas sidras obtidas com a cepa <i>Sacchromyces cerevisiae uvarum</i> - Fermol criouaromae.....	62
TABELA 12 - Concentrações de ésteres nas sidras obtidas com a cepa <i>Sacchromyces cerevisiae uvarum</i> - Fermol criouaromae.....	63
TABELA 13 - Concentrações de ácidos graxos voláteis nas sidras obtidas com a cepa <i>Sacchromyces cerevisiae uvarum</i> - Fermol criouaromae.....	64
TABELA 14 - Efeito da temperatura sobre o tempo de fermentação.....	65
TABELA 15 - Concentrações de etanol nas sidras obtidas com as cepas <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ICV D47 e <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CK.....	66
TABELA 16 - Concentrações de etanal, metanol e álcoois superiores nas sidras obtidas com as cepas <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ICV D47 e <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CK.....	68
TABELA 17 - Concentrações de ésteres nas sidras obtidas com as cepas <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ICV D47 e <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CK.....	69

TABELA 18 - Concentrações de ácidos graxos nas sidras obtidas com as cepas <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ICV D47 e <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CK.	70
TABELA 19 - Características físico-químicas do fermentado de maçã (ensaio de fermentação 5) usado no processo de desalcoolização.	71
TABELA 20 – Comparação da composição em fração molar da solução do experimento 2 e da simulação.	74
TABELA 21 - Azeótropos binários preditos.	75
TABELA 22 - Resultados das simulações dos ensaios da matriz de dados.	75
TABELA 23 - Características da sidra de origem e das sidras após desalcoolização.	83
TABELA 24 - Definições e referências para os termos descritores levantados pelos julgadores.	85
TABELA 25 - Níveis de significância para julgadores em função da discriminação das amostras ($p_{\text{tratamento}}$).	86
TABELA 26 - Níveis de significância para julgadores em função da repetibilidade ($p_{\text{repetição}}$)	86
TABELA 27 - Intensidade média dos atributos sensoriais para a sidra com álcool e para a sidra desalcoolizada conforme Avaliação Descritiva Quantitativa.....	91

ABREVIações

ABPM	Associação Brasileira de Produtores de Maçã
ACP	Análise de Componente Principal
ADQ	Análise descritiva quantitativa
C_F	Quantidade dos demais constituintes retidos no produto de fundo (com exceção do etanol e da água)
CK	Cepa <i>Saccharomyces cerevisiae</i> - Lallemand INC
CPI	Componentes Principais I
CPII	Componentes Principais II
E_{AC}	Quantidade de etanol no produto de topo (acumulado)
IAL	Instituto Adolfo Lutz
ICV D47	Cepa <i>Saccharomyces cerevisiae</i> - Lallemand INC
LSA	Levedura seca ativa
NACM	National Association of Cidermakers
N_e	Número de estágios
N_{ec}	Variável codificada para número de estágios
NRTL	Modelo de atividade
Q_{AC}	Quantidade de produto de topo (acumulado)
Q_F	Quantidade de produto restante no balão de destilação ou produto de fundo
Q_t	Carga térmica
Q_{t_c}	Variável codificada para carga térmica
rpm	Rotações por minuto
Rr	Razão de refluxo
Rr_c	Variável codificada para razão de refluxo
SAS	Programa estatístico for Windows
TA	Temperatura ambiente
TG	Temperatura de geladeira
UNIBAT	Simulador de coluna de destilação descontínua denominado
UNIFAC	UNIquac functional-group activity coefficient

RESUMO

Bebidas fermentadas sem álcool, ou com teor de etanol diminuído, são opções para os consumidores que buscam produtos alternativos tanto motivados pela redução de calorias quanto pela moderação dos efeitos prejudiciais do álcool. O produto obtido por fermentação alcoólica de mosto de maçãs com leveduras selecionadas recebe a denominação de sidra. O consumo dessa bebida no Brasil é tradicionalmente restrito às festas de fim de ano, não existindo hábito de consumo nem sistemático, nem rotineiro, nem esporádico. Mas novos produtos fermentados de suco de maçã podem eventualmente modificar esse hábito e a indústria sidrícola, acompanhando a indústria cervejeira e vinícola, pode oferecer produtos similares sem álcool ou com teor alcoólico diminuído, a serem consumidos durante o ano inteiro. O objetivo do trabalho foi avaliar parâmetros do processo biotecnológico para a produção de sidra e o processo de desalcoholização por destilação a vácuo, descontínuo, para a obtenção de uma bebida fermentada com teor diminuído em etanol, com perda mínima dos constituintes voláteis que conferem as características sensoriais do fermentado alcoólico. Para avaliar o desempenho de uma coluna de destilação a vácuo no processo de desalcoholização foi usado um programa de simulação, desenvolvido para a separação de misturas multicomponentes. As sidras obtidas de mostos tratados com ativadores de fermentação não apresentaram características distintas da sidra testemunha que justificassem seu uso. Os processos fermentativos conduzidos entre 8-10 °C foram mais lentos se comparados com o processo industrial e a qualidade dos produtos não justifica a instalação de uma prática não convencional. O produto mais indicado para o processo de desalcoholização foi o obtido com a cepa *Saccharomyces cerevisiae* CK em temperatura entre 23-26 °C, em função da análise do perfil dos aromas por cromatografia em fase gasosa bem como da análise olfativa. O produto desalcoholizado diferiu do de origem na composição e no teor dos voláteis, acidez, cor e gosto amargo, de acordo com as análises cromatográficas físico-químicas e sensoriais. O processo de destilação a vácuo mostrou-se adequado na prevenção da degradação térmica dos constituintes termo-sensíveis. Há uma destilação simultânea do etanol com importantes constituintes do aroma do produto. O programa de simulação revelou-se satisfatório enquanto ferramenta para definir as condições operacionais adequadas para a separação do etanol de diferentes misturas. As razões de refluxo mais altas são mais eficientes para a retenção de maior quantidade de constituintes de aroma da bebida enquanto o número de estágios se mostra pouco significativo. As simulações do processo mostraram que o destilador a vácuo pode ser constituído de dois a quatro estágios de separação com razão de refluxo entre 1 e 2.

Palavras chave: sidra, fermentação, destilação, desalcoholização, aroma.

ABSTRACT

Fermented beverages with low or without alcohol are new options for consumers motivated both for low calories intake as well as to reduce alcohol damage to health. The alcoholic fermentation of apple must by selected yeasts strains is known cider and its consumption in Brazil is amaysing: it is consumed only in parties at the end of the year without any other utilization not even systematic, routinely or sporadic. Indeed new products obtained by apple must fermentation may eventually modified such attitude and the apple agricultural industries may follow beer and wine making units and supply the market with lower levels of alcohol or without any alcohol at all to be drink all over the year. This research was done in order to evaluate some aspects of the bioprocess of cider making and the vacuum batch distillation used for dealcoholization of the fermentation product aiming to obtain a fermented beverage with low alcohol content and with minimal loss of volatile compounds which account for sensorial features of the beverage. The cider obtained from a fermentation process with chemical additives do not show any difference from those obtained with the traditional procedure. The objective of this thesis was to evaluate the biological process used for cider making and the dealcoholization process using vacuum distillation under vacuum in batch style in order to obtain a fermented beverage with less ethanol but with minimal losses of other volatile compounds responsible for the sensorial quality. In order to evaluate the performance of the column for distillation under vacuum it was used proper software designed for separation of multicomponent mixtures. The beverages obtained in the process with fermentation activators did not show any feature that justifies their use. The fermentation processes at 8-10 °C were slow when compared with the industrial one but the quality of the product also does not justify the installation of such a non usual practice. The selected product for the dealcoholization process was that obtained with *Saccharomyces cerevisiae* CK at 23-26 °C, considering the aroma profiles in gas chromatography and the olfative analysis. The final product was quite different from the initial one considering the composition and content of volatiles compounds, acidity, color and bitter taste according to chromatographic, physical chemical and sensorial analysis. The distillation process under vacuum prevents thermal degradation of thermo sensitive compounds. There is a simultaneous removal of ethanol with important components of the aroma. The software was satisfactory to be used as a tool in order to define the proper operational conditions for the separation of ethanol from different mixtures. The highest reflux rate was efficient to retain of higher amount of the aroma component but the number os stages was of low significance. The simulations of the process show that the vacuum distillator can have from 2 to 4 stages with a reflux rate between 1 and 2.

Key words: cider, fermentation, distillation, dealcoholization, aroma.

1 INTRODUÇÃO

O teor de etanol sempre foi sinônimo de qualidade das bebidas e foi progressivamente aumentando nas mais consumidas como vinhos e cervejas. Porém, nos últimos anos, uma forte tendência tem marcado o mercado nacional de alimentos e bebidas: a do produto saudável e conveniente. Parte dos consumidores de bebidas fermentadas busca produtos alternativos, motivados pela redução de calorias ou pela moderação dos efeitos prejudiciais do álcool.

Bebidas fermentadas sem álcool - contendo menos de 0,5% de etanol – ou com teor diminuído em álcool – redução de 30% do teor inicial – apareceram como opção para esses consumidores. Essas bebidas parecem representar uma completa ruptura com as tradições, mas o setor de bebidas está numa situação comparável a da indústria de laticínios com relação aos produtos “light” ou “diet”. A lacuna de mercado existe e precisa ser suprida. Para tanto, produtos e processos precisam ser definidos.

O produto obtido por fermentação de mosto de maçãs com leveduras selecionadas, após beneficiamento que compreende adição de açúcar e de gás carbônico, recebe a denominação de sidra. O consumo dessa bebida no Brasil apresenta uma característica interessante: apesar de estar disponível no mercado consumidor durante todo o ano, é apenas consumida em festas, reuniões familiares e, em particular, nas festas de fim de ano. Não existe hábito de consumo sistemático, nem rotineiro, nem esporádico, em nenhuma região do Brasil. Novos produtos fermentados de suco de maçã podem modificar esse hábito e a indústria sidrícola, acompanhando a indústria cervejeira e vinícola, pode oferecer produtos similares sem álcool ou com teor alcoólico diminuído.

A qualidade final dessas bebidas depende da matéria prima, do processo fermentativo e do processo de desalcoolização.

Existem processos para a redução do teor alcoólico das bebidas fermentadas tradicionais: térmicos clássicos ou melhorados, que utilizam membranas, redução de açúcares do mosto e utilização de microrganismos selecionados e/ou geneticamente modificados. Porém, torna-se difícil reequilibrar

sensorialmente essas bebidas já que o etanol afeta a percepção do aroma, acidez, adstringência e doçura.

Em vinhos, o teor de 10% de etanol diminui a percepção da acidez e aumenta a da doçura. No caso das cervejas e da sidra, duas ou três vezes menos alcoólicas no início, a desalcoolização deve alterar menos o equilíbrio sensorial. A remoção do etanol da mistura de componentes variada e complexa do aroma implica na adequação de um processo que também minimize a remoção dos demais compostos voláteis. Como o etanol é volátil, sua remoção pela aplicação do calor é um caminho termodinâmico natural. A destilação é comumente utilizada para a separação do etanol de fermentados, porém, na desalcoolização de bebidas deve-se considerar o efeito negativo do calor na qualidade do produto final. Esse problema pode ser contornado com a condução do processo sob vácuo.

Para a reprodução e otimização de um processo de destilação pode-se utilizar como ferramenta, programas de simulação para a determinação de uma função objetivo que pode ser: tempo de destilação mínimo, produção máxima ou lucro máximo, mantendo-se certas restrições como a quantidade produzida e pureza no fim do processo.

Os objetivos deste trabalho foram:

Avaliar o efeito da temperatura, de aditivos nitrogenados e de três cepas de microrganismos no processo biotecnológico visando à obtenção de sidras com melhores características de qualidade.

Avaliar, usando essa sidra, o processo de desalcoolização por destilação a vácuo, para a obtenção de uma bebida com teor diminuído em etanol, com perda mínima dos constituintes voláteis que conferem as características sensoriais do fermentado alcoólico.

Avaliar o desempenho de uma coluna de destilação a vácuo no processo de desalcoolização com o auxílio de um programa de simulação, desenvolvido para a separação de misturas multicomponentes.

2 REVISÃO

2.1 A Agroindústria da Maçã no Brasil

A cultura da maçã no Brasil foi iniciada com bases científicas no final dos anos 70 e, atualmente, apresenta um potencial de produção de mais de 1 000 000 de toneladas (FIGURA 1). O trabalho cooperativo de pesquisadores, produtores e serviços do governo, tornou possível o desenvolvimento no transcorrer dos últimos 30 anos. A cultura da maçã é uma atividade econômica relevante na Região Sul do país, com repercussão no cenário internacional, contribuindo com cerca de 1,5% da produção mundial (Wosiacki *et al.*, 2000;ABPM, 2004).

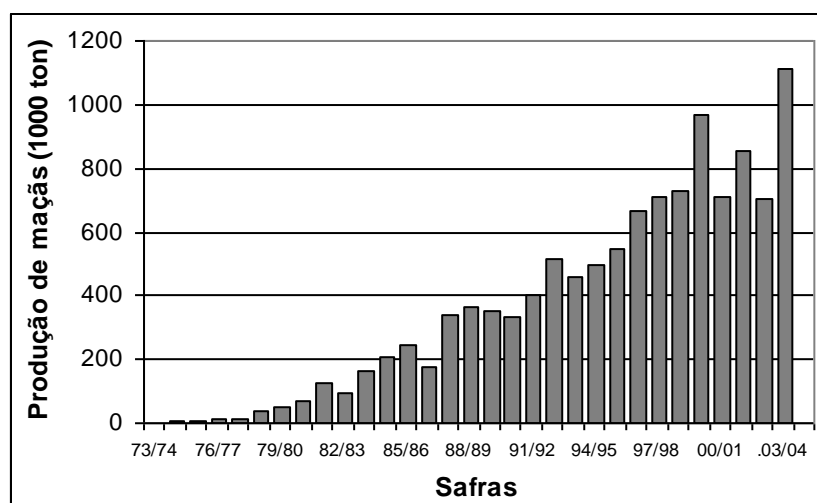


FIGURA 1 - Evolução da produção de maçãs no Brasil.

Fonte – ABPM, 2004.

É uma cultura de alta qualidade e, comparada com outros países produtores, ocupa a 5ª posição em eficiência, 7ª em infra-estrutura, 18ª no setor econômico e de marketing e 11ª sob um ponto de vista geral (ABPM, 2004). A produção de maçãs está distribuída nos Estados da Região Sul do Brasil sendo que uma pequena contribuição, de 2%, é observada no Estado de São Paulo. No final dos anos 90, a área plantada de maçãs no Brasil passou de 22 073 hectares para 30 307 hectares

apresentando um aumento de 37%. Maior crescimento foi observado no Estado do Rio Grande do Sul, onde passou de 8 190 para 11 757 hectares, tendo um aumento de 30%. Já no Estado de Santa Catarina a área passou de 13 464 para 15 814 hectares. No Paraná e São Paulo a área plantada é menor do que nos anos 90, apresentando uma redução de 75% e 38%, respectivamente. As principais cultivares plantadas são a Gala com 46% e a Fuji com 45%. A Golden Delicious representa 6% e todas as demais somente 3% da produção total (Wosiacki *et al.*, 2000).

No Brasil, a produção das frutas visa a atender o mercado consumidor *in natura*. Os pomares comerciais, atualmente com plantio adensado de árvores de pequeno porte, são conduzidos de forma a produzir frutas de coloração uniforme, com tamanho e formato adequados e boa aparência. Maçãs que não se apresentarem dentro dos padrões são consideradas frutas industriais e por consequência, de baixa cotação no mercado. Essas frutas podem chegar a representar 30% da produção total (Wosiacki *et al.*, 2002; Kennedy *et al.*, 1999).

Segundo Smock e Neubert (1950) e Epagri (2002) as maçãs que apresentarem tamanho fora dos padrões e coloração desuniforme, cicatrizes provenientes de insetos, pássaros ou granizo, ferimentos resultantes de tratamentos culturais e transporte inadequados, sintomas de doenças (manchas de sarna e de podridão) e problemas fisiológicos (“*russetting*”, “*bitter pit*” e escurecimentos internos) devem ser descartadas na etapa de seleção e classificação para consumo *in natura*.

Essas frutas eram, inicialmente, destinadas à alimentação animal, porém com o aumento da matéria-prima, as próprias indústrias classificadoras passaram a processá-las como forma de agregar valor, uma vez que a tonelada era vendida a U\$60,00 e com o processamento pode-se alcançar U\$240,00 (Cherubim, 1996), já que na composição do custo industrial do produto final 25% é derivado da matéria-prima.

Cerca de 2/3 dos frutos rejeitados como frutas para consumo *in natura* ainda são adequados para o processamento. Após esses frutos passarem pela segunda etapa de seleção onde são descartados aqueles portadores de doenças ou mesmo apodrecidos, recebem a denominação de maçãs industriais (Wosiacki *et al.*, 2002).

A composição físico-química das frutas descartadas nas etapas de seleção e classificação e que apresentam deformidades, tamanhos impróprios, cicatrizes ou manchas, é praticamente a mesma das maçãs comercializadas e, desta forma, estas frutas podem ser utilizadas pelas indústrias processadoras de suco. Em virtude disso

há possibilidade de valorizar economicamente esta fração da produção comercial até então sem muitas perspectivas (Wosiacki *et al.*, 1992).

As frutas que apresentam problemas fitossanitários ou aberturas na epiderme, verdadeiras portas de entrada para microorganismos, são encaminhadas para a fabricação de sidra, fermentado acético e destilados. Este uso de frutas de má qualidade se justifica, pois a patulina, micotoxina carcinogênica produzida por fungos nas frutas em deterioração, é eliminada durante o processo de fermentação (Scussel, 1998; Binnig; Possmann, 1993; Askar, 1999).

Na FIGURA 2 pode ser observada uma estimativa da evolução da quantidade de maçãs descartadas nos últimos 26 anos (referente a 30% de perdas ao ano). Esse descarte atingiu mais de 300 000 toneladas em 2004, destinado principalmente ao processamento de suco clarificado e concentrado e de produtos fermentados, tais como sidra, fermentado acético ou mesmo destilados.

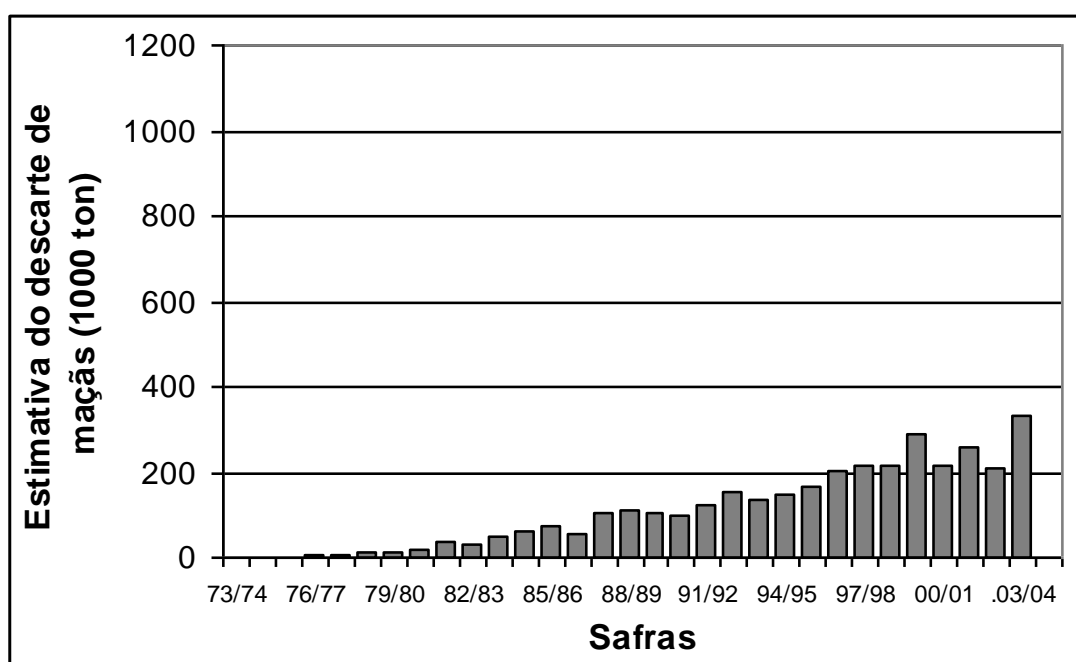


FIGURA 2 - Estimativa da evolução do descarte de maçãs

Fonte : Paganini *et al.*, 2004

Este perfil de aumento de disponibilidade de matéria-prima é análogo ao da produção brasileira de maçã uma vez que foi considerado o fator 0,30 para o seu estabelecimento. O que mudou neste processo é que no início, a fração de produtos

agrícolas de má qualidade era comercializada a preços baixos e atualmente está sendo direcionada para processos industriais com agregação de valor econômico (Paganini *et al.*, 2004).

2.2 Bebida alcoólica derivada do processo fermentativo do mosto de maçã

As origens do “vinho de maçã” ou sidra permanecem duvidosas porém, no século I, os hebreus bebiam “shekar”, os gregos “sikera” e os romanos “sicera”. Todas essas bebidas eram fabricadas à base de suco fermentado de maçãs (Robin; de La Torre, 1988).

A sidra é produzida em vinte e cinco países europeus e dentre eles os mais importantes são a Inglaterra, a França, a Alemanha, a Bélgica, a Espanha, a Suíça e a Irlanda. Os Estados Unidos e o Canadá também produzem sidra, mas incluem nessa denominação um suco de maçãs espumante e não alcoólico. O maior produtor de sidra fermentada é a Inglaterra (480 milhões de litros por ano), em uma região situada entre os condados de Hereford e Worcester. A produção anual da França é de 115 milhões de litros e está restrita às Regiões da Normandia e Bretanha. A maior parte do processamento de sidra germânica (100 milhões de litros) está localizada no eixo Trier/Frankfurt. Outras produções existem no norte da Espanha (70 milhões de litros), Irlanda (45 milhões de litros). Em outros países como Brasil, Bélgica, Áustria, Suíça, Suécia, Finlândia, África do Sul, Austrália, Canadá, Argentina e Chile a produção é pequena. A produção de vinho de maçã nos EUA vem aumentando consideravelmente sendo que a maior parte dessa produção, 100 milhões de litros, é usada para a conversão direta em vinagre (Lea, 1989; Lea; Drilleau, 2003, no prelo).

A sidra produzida na Região Oeste da França é considerada a melhor do mundo e o consumo dessa bebida nesse país situa-se após a cerveja e o vinho (Drilleau, 1991).

No Brasil é comercializado um produto de nome sidra, de características diferentes das bebidas européias. Seguramente, as diferenças se devem à matéria-prima e à tecnologia de produção (Wosiacki *et al.*, 1997).

Na América do Norte e na Inglaterra o termo “cider” se refere ao suco turvo de maçãs sem pasteurização e o termo “hard cider” corresponde ao produto

fermentado. Em países como a França, o termo “cidre”, países de língua Alemã “Apfelwein”, na Espanha e no Brasil sidra, é reservado ao produto fermentado (Lea; Drilleau, 2003, no prelo). Na França, Alemanha, Espanha e Brasil as definições são regulamentadas por legislação e os produtos, nesses quatro países, são bem diferentes (Tabela 1).

Na França a bebida tem a seguinte definição legal:

“Nenhuma bebida pode ser transportada com o objetivo de venda, colocada à venda ou vendida, sob o nome de sidra, se ela não provém exclusivamente da fermentação do suco de maçãs frescas ou de uma mistura de maçãs e pêras frescas, extraídas com ou sem adição de água potável” (Lea; Drilleau, 2003, no prelo).

Na Inglaterra a sidra é definida como:

“Bebida obtida por parcial ou completa fermentação do suco de maçãs... ou concentrado de maçãs... com ou sem a adição, antes da fermentação, de açúcares e água potável” (NACM, 1998).

Pela legislação brasileira, a sidra é:

“Um produto que pode ser obtido pela fermentação alcoólica do mosto de maçãs, adicionado ou não de, no máximo 30%, de suco de pêra” (Brasil, 1974).

Trata-se, pois, de um vinho de fruta semelhante ao de uva, porém com menor concentração alcoólica. Sua graduação alcoólica deve ser superior a 4°GL e é chamada de “seca” a bebida que contenha menos de 30 g.L⁻¹ de açúcares, “semi-seca” ou “semidoce”, entre 30 e 50 g.L⁻¹, e “doce” quando contém mais de 50 g.L⁻¹, até o limite máximo de 80 g.L⁻¹. A legislação determina também os produtos que podem ser utilizados na fabricação da sidra como gás carbônico industrial, os conservantes ácido sórbico (0,02%) e dióxido de enxofre (0,045%), os acidulantes ácido cítrico (0,5%) e ácido láctico (0,5%) e 30% de suco de pêras (Brasil, 1974).

TABELA 1 - Diferenças nos padrões de identidade e qualidade da sidra em alguns países europeus e no Brasil.

Adição de açúcar e concentrados	
Inglaterra:	Permite <i>ad liv</i> * (a)
França:	Não permite adição de açúcares, mas concentrados podem ser adicionados até 50% (b)
Alemanha:	Permite até a densidade máxima de 1 055 Kg.m ⁻³ (b)
Brasil:	Permite adicionar até 30% de suco de pêra e a mesma quantidade de açúcares presentes no mosto (c)
Grau alcoólico	
Inglaterra:	1,2-8,5% (a)
França:	1,5% mínimo (3% máximo para sidra doce) (b)
Alemanha:	5% mínimo (b)
Brasil:	4% mínimo e 8% máximo (c)
Adição de ácidos	
Inglaterra:	Permite <i>ad liv</i> : málico, cítrico, tartárico, láctico (a)
França:	Permite somente: cítrico, málico (máximo de 5 g.L ⁻¹) (b)
Alemanha:	Permite somente láctico (máximo de 3 g.L ⁻¹) (b)
Brasil:	Permite os aprovados pelo Ministério da Agricultura, mínimo 3 g.L ⁻¹ e máximo 8 g.L ⁻¹ de acidez em ac. málico no produto final (c)
Adoçantes	
Inglaterra:	Permite <i>ad liv</i> de açúcares e adoçantes (a)
França:	Permitido somente em suco de maçã. Residuais na sidra: semi-seca 28-42 g.L ⁻¹ ; seca < 28 g.L ⁻¹ ; doce >35 g.L ⁻¹ (b)
Alemanha:	Permite somente açúcares (máximo de 10 g.L ⁻¹) (b)
Brasil:	Permite os aprovados pelo Ministério da Agricultura. Residuais na sidra: seca ≤ 20 g.L ⁻¹ ; doce ou suave ≥ 20 g.L ⁻¹ (c)
Corantes	
Inglaterra:	Todos os corantes de alimentos são permitidos (a)
França:	Permite cochonilha e caramelo (b)
Alemanha:	Pequenas quantidades de caramelo (b)
Brasil:	Permite os aprovados pelo Ministério da Agricultura (c)
Açúcar livre no extrato seco	
Inglaterra:	13 g.L ⁻¹ mínimo (a)
França:	16 g.L ⁻¹ mínimo (b)
Alemanha:	18 g.L ⁻¹ mínimo (b)
Brasil:	15 g.L ⁻¹ mínimo (c)

Fonte: (a) NACM (1998); (b) Lea (1995); (c) Brasil. Portaria n° 746, de 24 de outubro de 1974. Norma de identidade e qualidade das sidras. Diário Oficial da União. Brasília, 17 nov. 1974.

**ad liv*: adição livre.

A produção do fermentado de maçã no Brasil está direcionada para formulação das sidras e dos filtrados doces e para a produção de fermentado acético. As unidades industriais atendem esse mercado que no caso das sidras e filtrados é constituído principalmente por distribuidoras de bebidas (Wosiacki, 2003).

O processamento de sidra no Brasil segue, em linhas gerais, a seguinte seqüência: as frutas desclassificadas para consumo de mesa são conduzidas ao

processo através de dutos com água, passam para elevadores de canecas onde são lavadas com água potável por aspersão e, posteriormente são trituradas em moinhos. Durante a trituração é adicionado dióxido de enxofre para prevenir o processo de oxidação. Após a trituração é feita a extração do suco em prensas de pistão ou de esteira. O suco recebe a adição de enzimas pectinolíticas e do inóculo sob a forma de leveduras de vinho, ativas e secas. A fermentação alcoólica ocorre em dornas à temperatura ambiente por um período de aproximadamente dez dias, durante os meses de fevereiro, março e abril, ou seja, durante o final do verão e começo do outono. Ao término da fermentação, o suco fermentado de maçã é filtrado e transferido para outros tanques onde, após o atesto, permanece durante o período de maturação (maio até novembro), quando podem ocorrer fermentações secundárias. Terminada a maturação, é adicionada sacarose, que pode variar de 75 a 100 g.L⁻¹ e, caso seja necessário, é corrigida a acidez com a adição de ácido láctico; os agentes de conservação usados compreendem o metabissulfito de potássio, de 30 e 50 mg.L⁻¹ de SO₂ livre, e o sorbato de potássio na concentração permitida pela legislação. O fermentado é então clarificado, normalmente com bentonita e gelatina ou caseína. A fase seguinte é a pasteurização, depois o resfriamento para a adição de dióxido de carbono (CO₂) e o envase em garrafas especiais (Wosiacki *et al.*, 1997).

Na FIGURA 3 estão discriminadas as principais diferenças entre o processamento da sidra brasileira e da sidra francesa.

No Brasil a sidra é apenas consumida em festas, reuniões familiares e, em particular, nas festas de fim de ano, ocasiões em que compete com vinhos frisantes efervescentes, do tipo champanha, assim como com outras bebidas como cervejas e refrigerantes. Não existe hábito de consumo sistemático, rotineiro e esporádico em nenhuma região do país e toda a produção é voltada para atender o mercado interno, não existindo ainda, processos ou tentativas de exportação (Wosiacki *et al.*, 1997).

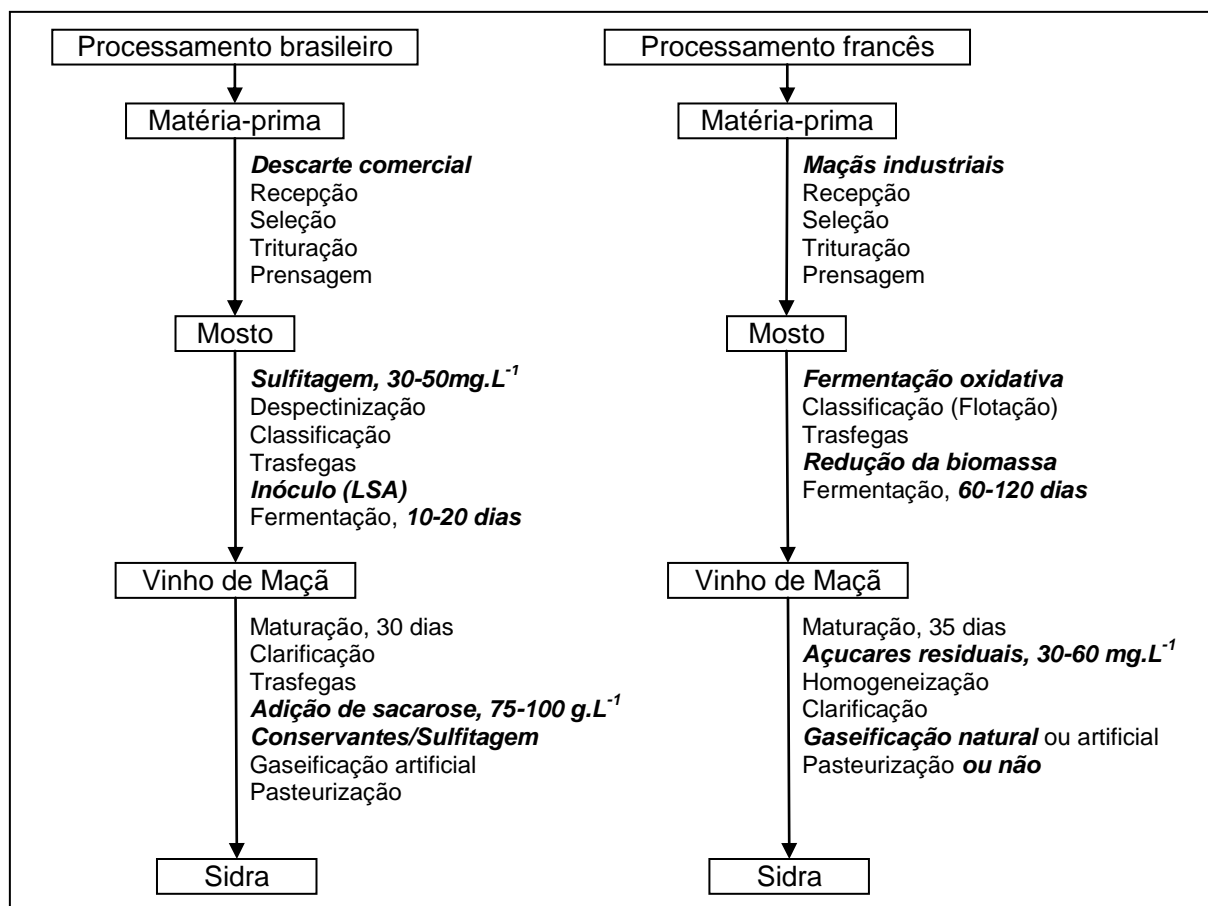


FIGURA 3 - Diferenças entre o processamento da sidra brasileira e da sidra francesa.

Fonte: Wosiacki *et al.*(1997); Lequeré; Drilleau (1993a); Nogueira (1998).

2.30 processo fermentativo do mosto de maçãs

Segundo Northcote (1958), o suco está contido no vacúolo de cada célula parenquimatosa do tecido comestível da maçã. Cada célula é revestida por uma parede primária constituída por um gel de pectina, celulose e hemicelulose. Entre as paredes primárias está disposta a lamela média, composta principalmente de pectina. Para extrair o suco é preciso desorganizar os tecidos obtendo-se a polpa composta de paredes celulares e de líquido. Para tal existem técnicas distintas que começaram com o uso do pilão, passaram pelas prensas e chegaram até as enzimas pectinolíticas e celulolíticas.

As moléculas responsáveis pelos sabores fundamentais do mosto de maçãs são os compostos não voláteis: açúcares para o sabor doce, ácidos orgânicos para o sabor ácido e compostos fenólicos para o sabor amargo, que diferem

qualitativamente muito pouco de outros substratos naturais de fermentação como o suco de uva. Os açúcares (100-150 g.L⁻¹), dividem-se essencialmente em frutose, sacarose e glicose na proporção de 1 : 0,6 : 0,3, respectivamente. A D(+) xilose aparece em concentração menor, em torno de 0,5 g.L⁻¹ e outros constituintes minoritários são galactose, arabinose, ribose, rafinose, sorbose e inositol (Beech; Carr, 1977). Dentre os ácidos orgânicos presentes, a maior quantidade é de ácido L-málico (4-6 g.L⁻¹). Os sais desse ácido são todos solúveis no mosto e pode-se considerar o ácido orgânico mais importante durante a elaboração dos fermentados de maçã (Borzani, 1983). Ao contrário do ácido tartárico, trata-se de um ácido facilmente metabolizado, isto é, degradado pelas células. Os compostos fenólicos do suco de maçã são mais conhecidos como taninos, mas como sugerem Beech e Carr (1977), é preferível empregar a expressão compostos fenólicos já que somente uma fração deles, as procianidinas, é susceptível de combinar-se com as proteínas. Essas substâncias conferem cor, adstringência e sabor amargo aos sucos e ao fermentado de maçã. São constituídos de cinco grupos químicos: antocianinas, flavonas, certos fenóis-ácidos que estão sob forma de ésteres, os taninos condensados e os taninos catéquicos (Borzani, 1983).

Os compostos nitrogenados também aparecem no suco de maçã sob diversas formas (Tabela 2) e o teor desses compostos varia em função dos tratos culturais, solo e clima (Burroughs, 1957).

TABELA 2 - Diferentes frações nitrogenadas encontradas no suco de maçãs.

<i>Fração nitrogenada</i>	<i>Nitrogênio total (44 a 329 mg.L⁻¹)</i>
Forma amina	15,2 a 61,2 %
Forma amida	5 a 30 %
Forma amoniacal	Máximo de 1 %

Fonte : (Burroughs, 1957).

A concentração de nitrogênio total está em contínuo aumento. Em 1951, Jacquin e Tavernier determinaram valores entre 40 e 140 mg.L⁻¹, com média de 80 mg.L⁻¹, entretanto, análises realizadas por Drilleau (1996) em variedades da safra 1996 forneceram valores mais dispersos entre 27 a 574 mg.L⁻¹ com média de 130 mg.L⁻¹.

Ao analisarem as diferentes formas de nitrogênio nas maçãs e nos mostos, Baron *et al.* (1982) mostraram que após a prensagem acontece um fracionamento

dos compostos nitrogenados; alguns ficam retidos no bagaço e outros passam para o mosto em quantidades que variam com o estado fisiológico da fruta.

Desde muito tempo, o nitrogênio é considerado fator limitante da fermentação do vinho, da cerveja e da sidra (Kirsop; Brow, 1972; Van Rooyen; Tromp, 1982; Casey *et al.*, 1984; Bezenger *et al.*, 1985; Bezenger; Navarro, 1988).

A ampla variedade de compostos nitrogenados presentes nos mostos exerce importante função anabólica na biossíntese de proteínas e nas funções enzimáticas das leveduras (Walker, 1998). Desta forma, influenciam no crescimento e no metabolismo (constituem de 3 a 10% da matéria seca das leveduras) e, conseqüentemente, na taxa de fermentação (Henschke; Jiranek, 1992).

A *Saccharomyces cerevisiae* sintetiza proteínas durante a fermentação, mesmo se não tiver a possibilidade de incorporar, em um determinado período, a totalidade das fontes de nitrogênio disponíveis no mosto. Essa levedura, em condições enológicas, é capaz de sintetizar os aminoácidos de que necessita a partir de fontes de nitrogênio disponíveis pela transaminação entre aminoácidos e ácidos α -cetônicos (Jones *et al.*, 1969).

Os microrganismos utilizam parte do ciclo de Krebs para sintetizar os aminoácidos e os lipídios necessários ao crescimento. A levedura é capaz de sintetizar as vitaminas, os esteróis e os ácidos nucléicos necessários à sua multiplicação, porém os elementos inorgânicos indispensáveis à ação das enzimas são diretamente extraídos do mosto (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

Ao comparar as necessidades de nitrogênio de algumas cepas, Jiranek *et al.* (1990) observaram variações importantes segundo a quantidade inicial de açúcares e as condições de aeração. Diferentes trabalhos mostram que o tempo para a degradação completa dos açúcares pode ser reduzido pela adição de nitrogênio (Agenbach, 1977; Monk 1982, Monk; Costello, 1984). Segundo Vos e Gray (1979) e Monk (1982), esta adição diminui também a formação de compostos sulfurados, contribuindo assim para a melhoria da qualidade do vinho.

Segundo Jacquín; Tavernier (1951), no processamento da sidra, uma baixa concentração de nitrogênio total era considerada uma condição necessária para a fermentação lenta e para a estabilização em densidade, ou seja, para a presença de açúcares residuais no produto final sem nutrientes para uma refermentação. Os mesmos autores observaram que para isso acontecer, uma relação N/S do mosto

deveria ser inferior a 0,4 (N representa a concentração total de nitrogênio do mosto em mg.L^{-1} e S a concentração de açúcares totais em g.L^{-1}).

Drilleau (1993) observou que quando a concentração inicial de nitrogênio em meios sintéticos era de 50 mg.L^{-1} , esse nutriente era totalmente consumido durante a fermentação. Após o 12º dia a fermentação estava quase totalmente estabilizada e ao final do 17º dia apresentava densidade de 1025 kg.m^{-3} . Quando as concentrações eram de 100 e 150 mg.L^{-1} os processos finalizavam no 17º dia de fermentação, os meios apresentavam densidade de 1000 kg.m^{-3} e nitrogênio residual, mostrando que o poder fermentativo das leveduras diminui fortemente quando a concentração de nitrogênio diminui, explicando assim a estabilização, em densidade, de mostos com baixas concentrações de nitrogênio.

A parte assimilável do nitrogênio disponível nos mostos é constituída principalmente de ácidos aminados livres e de íons de amônio. Entretanto, a participação dos íons de amônio no mosto de maçãs chega no máximo a 1% da quantidade total de nitrogênio. A velocidade de assimilação dos aminoácidos e dos íons de amônio é variável (Jones; Pierce, 1964) e depende do funcionamento de sistemas de transporte e da regulação dos sistemas metabólicos (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998). Esses últimos autores ainda observaram, que os aminoácidos mais assimiláveis não são obrigatoriamente os elementos constitutivos mais importantes, mas sem dúvida são os mais facilmente transformados pela levedura.

Segundo Ribéreau-Gayon *et al.* (1998) os íons de amônio são assimiláveis e podem satisfazer todas as necessidades da levedura, em particular a síntese de aminoácidos uma vez que os polipeptídios e as proteínas não participam do crescimento da *Saccharomyces cerevisiae*, pois essa levedura não tem a propriedade de hidrolisar esses compostos. Essa levedura não tem a necessidade absoluta de receber aminoácidos na sua alimentação nitrogenada, pois ela tem condições de sintetizá-los.

Com a adição balanceada de nutrientes, mantém-se elevada a velocidade de fermentação mesmo após a fase tumultuosa, evitando que as células de levedura metabolisem as próprias reservas dos fatores de sobrevivência, como esteróis e ácidos graxos. Com a diminuição de tais substâncias (componentes fundamentais da parede celular), a levedura fica mais sensível aos efeitos negativos dos resíduos de antiparasitários, aos ácidos graxos de cadeia longa como o ácido decanóico e dodecanóico, e a outras eventuais toxinas presentes no mosto ao final do processo

fermentativo. Na segunda parte da fermentação, devido à concentração alcoólica, ao ambiente fortemente anaeróbico e pela redução da disponibilidade de açúcar, a levedura passa inevitavelmente por uma fase de estresse, sendo fundamental protegê-la para evitar a parada de seu metabolismo (Rosier, 2001).

Os ativadores de fermentação podem ser fatores de crescimento, definidos como substâncias indispensáveis para a multiplicação celular e que as leveduras são incapazes de sintetizar ou “fatores de sobrevivência”, que são substâncias cuja adição ao meio pode prolongar a atividade metabólica das células e também favorecer a multiplicação das leveduras e manter maior viabilidade da população na fase de declínio (Lepe,1997).

A ação dos ativadores depende da composição do mosto, da fisiologia da célula e do momento da adição. São mais efetivos quando colocados no início da fermentação para reduzir a fase de latência. Quando são adicionados durante a fermentação podem ser pouco eficazes e quase sem efeito sobre a população quando esta se encontra na fase de declínio. Os ativadores estimulam a produção de esteróis e de ácidos graxos que tornam as leveduras mais resistentes na fase final de fermentação e se revelam extremamente importantes para conduzir ao término o processo e desenvolver notas de qualidade nos vinhos (Lepe,1997).

.Os componentes mais comumente encontrados em ativadores comerciais de fermentação são: sais de amônio que restabelecem os teores iniciais em nitrogênio amoniacal de mostos clarificados; vitamina B1 que estimula o crescimento e retarda o declínio das células bem como inibe parcialmente a produção de álcoois superiores que em grandes concentrações conferem desarmonia ao produto e favorece a produção de 2-fenil etanol que apresenta aroma de rosas; caseinato de potássio que cede aminoácidos ao meio, favorecendo a cinética de fermentação da levedura que necessita destas substâncias, principalmente na segunda fase da fermentação; fibras de celulose que servem de suporte para as leveduras permitindo a distribuição uniforme dos microrganismos no meio principalmente na fase final, quando se reduz o efeito dispersante provocado pela liberação do gás carbônico; tanino que apresenta função de proteção contra a oxidação e enzima pectinolítica que favorece a clarificação do mosto (Lepe,1997).

Uma fermentação lenta tem sido considerada como necessária à obtenção de uma sidra de qualidade. Para diminuir a velocidade de fermentação, algumas

estratégias tecnológicas são utilizadas, tais como baixas temperaturas, clarificação por flotação, trasfegas, centrifugações e filtrações (Lequéré,1991).

Nos produtos de fermentação rápida, a presença de aroma “de fermento” mascara ou substitui o aroma “frutado” considerado como favorável à qualidade do produto. Esse aroma indesejável (de fermento), diminui na fase de maturação, mas se for significativo na fermentação, permanecerá no produto final (Lequéré, 1991). Segundo Drilleau (1991), compostos como diacetil e acetoína causam efeitos aromáticos indesejáveis (rançosos). Estes compostos são produzidos em grande quantidade em fermentações rápidas devido às temperaturas elevadas e presença de uma grande população de leveduras. Porém, Mangas *et al.*, (1996) mostraram que condições de fermentações rápidas (elevada concentração de nitrogênio e altas temperaturas) favorecem o surgimento de álcoois superiores e ésteres, os quais têm participação nos aromas frutados.

Baixas temperaturas (10-15 °C) podem ser usadas em fermentação alcoólica para aumentar a produção e retenção dos constituintes do aroma. Porém, essas temperaturas não são comumente usadas nas vinícolas devido aos drásticos efeitos sobre o crescimento e a atividade das leveduras e conseqüente aumento no tempo de processo bem como ao custo dos equipamentos com controle de temperatura (Llauradó *et al.*, 2002).

Drilleau (1991) constatou que fermentações em temperaturas inferiores a 5°C resultam em sidras com boa qualidade aromática, porém exigem instalações de alto custo (isolamento térmico e potência frigorífica).

Segundo Mafart (1989) a quantidade de álcoois superiores formados nas sidras atinge um máximo entre 15 e 25°C e depois diminui fora dessa zona. Nos vinhos, há um aumento nas quantidades de isobutanol e de álcoois amílicos quando se passa da temperatura de 15 para 25°C e uma diminuição da quantidade de propanol (Leguerinel *et al.*,1988)

Apesar da incidência de vários fatores sobre a velocidade de fermentação, de uma maneira geral para temperaturas entre 15 e 35 °C, a fase de latência será tão mais curta e o processo tão mais rápido quanto mais elevada for a temperatura. Assim, a fermentação de um mosto contendo 200 g.L⁻¹ de açúcar demora mais de uma semana para começar quando a temperatura é 10 °C enquanto que em 30 °C o processo começa em 24 horas. Tudo isso é dependente da espécie e da cepa de

levedura envolvida no processo, da composição do mosto, da aeração e do etanol que vai sendo formado (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

Ough *et al.*(1968) estudaram a influência das temperaturas de 10 a 33 °C sobre a velocidade de fermentação do mosto em relação ao pH, açúcar, álcool e nitrogênio amoniacal, demonstrando que o efeito retardador do etanol e do baixo pH é potencialmente aumentado com a elevação da temperatura. Os autores constataram que as condições ótimas de temperatura não são as mesmas para as diferentes funções das células, em especial o crescimento, a velocidade de fermentação e a resistência ao etanol. A temperatura ótima para maximizar a transformação de açúcar em álcool é mais elevada do que para obter maior massa de células, no entanto a sensibilidade da levedura ao álcool é consideravelmente aumentada com a elevação da temperatura. Na prática, para a determinação da temperatura ótima para a vinificação, deve-se considerar que a temperatura seja suficiente para obter-se fermentação rápida e não demasiadamente alta principalmente ao final, para não prejudicar a multiplicação das leveduras.

O papel determinante das cepas de leveduras nas características sensoriais das bebidas alcoólicas é reconhecido há muito tempo. Em 1876, Pasteur escreveu: "O gosto, as qualidades do vinho dependem certamente em grande parte da natureza das leveduras que se desenvolvem durante a fermentação e devemos pensar que se submetermos o mesmo mosto de uvas à ação de leveduras distintas, obteremos vinhos de natureza diversa".

No caso das sidras, Lloyd (1894) citado por Mafart (1989) constatou que os mostos de maçãs, inoculados com leveduras isoladas do vinho apresentavam gosto similar ao dessa bebida e na mesma época Warcollier demonstrou a existência de leveduras características de uma região, responsáveis, em parte, pelos diferentes aromas das sidras da Bretanha e da Normandia.

As diferenças nas características sensoriais das bebidas fermentadas obtidas com cepas de levedura de diferentes espécies são mais importantes do que aquelas obtidas entre uma cepa e outra dentro da mesma espécie. Apesar da importância da cepa de levedura no processo fermentativo, ela é apenas um dos fatores determinantes do aroma das bebidas fermentadas. Outros fatores físico-químicos como a natureza e composição do mosto de origem e a temperatura de fermentação influenciam no processo (Mafart,1989).

As chamadas “fermentações frias”, em temperaturas de 6 a 10 °C, que são conduzidas por leveduras adaptadas ao frio, resultam em processos lentos e muito regulares sendo que os vinhos resultantes são secos, finos e aromáticos (Lepe, 1997).

Segundo Lepe (1997), as cepas criotolerantes de *Saccharomyces uvarum* e de *Saccharomyces bayanus* produzem mais glicerina e mais ácido succínico, menos ácido acético, sintetizam ácido málico e também o degradam. O rendimento em etanol é mais baixo, a acidez total mais alta e o pH alguns décimos inferior. Devido a essas características têm sido utilizadas para a melhoria da composição química de alguns vinhos.

Daudt e Ough (1973) verificaram que a formação dos ésteres é influenciada pela levedura, mas que as quantidades produzidas de cada um não são afetadas da mesma maneira por uma levedura específica.

Os compostos designados por aromas, são moléculas orgânicas de baixo peso molecular (inferior a 400 daltons), cuja tensão de vapor à pressão atmosférica e à temperatura ambiente é suficientemente alta para que estas moléculas encontrem-se na atmosfera parcialmente no estado de vapor e possam, através do contato com a mucosa olfativa, provocar um estímulo (Richard; Multon, 1992).

Já se demonstrou que as leveduras são responsáveis pela formação da maioria dos compostos voláteis das bebidas alcoólicas. Não somente as substâncias fermentescíveis, mas igualmente certos ácidos graxos, certos compostos nitrogenados orgânicos, certos compostos sulfurados e numerosas outras substâncias podem penetrar nas células das leveduras onde participam de reações bioquímicas e contribuem para a síntese de substâncias voláteis como metabólitos secundários da fermentação alcoólica (Nykanen; Suomalainen, 1983).

Além da mistura de aromas presente nas sidras ser muito complexa, sua percepção pelos degustadores é influenciada pela presença das moléculas não voláteis. Essas moléculas podem mascarar ou intensificar o aroma. A intensidade e qualidade de um aroma não são necessariamente determinadas pelos componentes presentes nas maiores concentrações. O olfato humano é bastante sensível e determinados compostos podem ser detectados em concentrações molares de 10^{-18} (Monteiro, 1984). O limite mínimo de percepção absoluta de uma substância é denominado “Treshold” ou limiar mínimo. Não é correto afirmar que um composto quimicamente puro se destacará em uma mistura de constituintes aromáticos

somente porque seu limiar de percepção em solução aquosa a 20 °C é mais baixo do que os demais constituintes da mistura. Esse valor mínimo de percepção absoluta nos alimentos depende de diversos fatores: da pressão de vapor dos compostos voláteis, da temperatura do alimento, de sua composição e das interações dos aromas com lipídios, proteínas e carboidratos, as quais afetam diretamente a dispersão destes na fase aquosa (Richard; Multon,1992).

As moléculas responsáveis pelo aroma específico e característico das sidras compreendem uma mistura complexa de compostos voláteis como aldeídos, álcoois superiores, ésteres, terpenos e ácidos, genericamente chamados de aromas (Bertrand,1996a).

Os álcoois superiores são produzidos essencialmente durante a fermentação; entretanto, o butanol presente em certos sucos em concentração da ordem de 20 ppm, não evolui. O propanol aparece em pequenas quantidades e os compostos cujas concentrações aumentam de forma mais importante são o isobutanol, álcool isoamílico, álcool amílico e o feniletanol (Pollard *et al.*, 1966; Kohler, 1988).

Os trabalhos de Ehrlich; Pitschimuka (1912) demonstraram que os aminoácidos são os principais precursores dos álcoois superiores. Os detalhes do mecanismo foram estudados por Sentheshanmuganathan; Eldsen (1958): os aminoácidos (leucina, isoleucina, valina, fenilalanina) passam por uma transaminação; o ácido α - cetônico produzido é descarboxilado em aldeído que é reduzido a álcool. Porém, Pollard *et al.*(1956,1966) observaram que não seria esta a única via, em particular para as sidras, devido aos pequenos teores em aminoácidos disponíveis em relação aos elevados teores de álcoois superiores presentes nesses produtos. Dupuy *et al.* demonstraram em 1967 que existem álcoois superiores nos vinhos que não são obtidos a partir de aminoácidos naturais. Vários estudos feitos por outros autores permitiram a Ayrapaa (1973) mostrar que os álcoois superiores são igualmente formados por via anabólica a partir dos açúcares. Bertrand (1978) também concluiu que a maioria desses compostos é resultante do metabolismo dos açúcares.

Produtos secundários da fermentação, os álcoois superiores aparecem no mosto ao mesmo tempo em que o etanol e pode-se dizer que sua concentração reflete diretamente a diminuição do teor de açúcares. Os fatores que favorecem a atividade fermentativa também induzem a formação dos álcoois superiores que

depende qualitativa e quantitativamente das cepas de leveduras, da variedade das maçãs, dos tratamentos do mosto, do pH e da temperatura de fermentação (Williams, 1974b)

Pollard *et al.* citados por Margalith e Schwartz (1970) inocularam suco de maçã com cepas isoladas de maçãs e de suco e com cepas purificadas e verificaram que a quantidade produzida de álcoois superiores foi variável dependendo da cepa utilizada.

Dentro da faixa de temperaturas empregada nas cervejarias, a quantidade de álcoois superiores aumenta com a elevação da temperatura embora haja diferenças quando se trabalha em escala piloto ou industrial (Mafart, 1989).

Os álcoois superiores estão em pequena concentração no suco de maçã e são constituídos principalmente pelo hexanol e butanol. Desempenham, muitas vezes, papel indireto na composição dos aromas, mas também podem atuar como precursores de outros compostos como aldeídos e ésteres. São compostos importantes para o aroma das sidras e uma concentração de pelo menos 200 ppm é essencial para o aroma típico do produto final (Pollard *et al.* citados por Margalith e Schwartz, 1970).

Segundo Willians e Tucknott (1971), os álcoois superiores são os principais componentes que caracterizam o aroma das sidras e de acordo com Ribéreau-Gayon e Peynaud (1961), os vinhos são constituídos por 90% de álcool isoamílico (100-400 mg.L⁻¹) e de álcool isobutílico (30-200 mg.L⁻¹). Além desses, outros álcoois superiores identificados nas sidras são: butanol, hexanol, 2-fenil etanol.

Durante a fermentação, as leveduras sintetizam e hidrolisam os ésteres; centenas desses compostos são formadas, porém, a composição é similar para todas as bebidas alcoólicas (Dürr, 1986), ainda que a formação destes compostos seja influenciada pela temperatura, proporção e tipo de inóculo e por condições de anaerobiose no processo fermentativo (Williams *et al.* 1978).

Os ésteres etílicos predominam em razão da abundância do etanol no meio em fermentação. Dentre os ésteres de ácidos graxos, os de baixo peso molecular representam uma importante classe de aromas. Os odores de frutas estão geralmente relacionados com acetatos, propionatos e butiratos (Macedo; Pastore, 1997).

Ésteres como o acetato de etila em meios de cultivo tem sua formação relacionada a um metabolismo de desintoxicação, através do qual o microrganismo

impede o acúmulo de compostos tóxicos, como ácidos graxos de cadeia curta e álcoois superiores. A produção de acetatos acontece como uma forma de desintoxicação do meio através da conversão de ácido acético e de álcoois superiores (Latrasse *et al*,1987).

Duas rotas metabólicas podem ser seguidas para a formação de ésteres: alcoólise de compostos de Acyl-CoA e esterificação direta de um ácido orgânico. A primeira rota é percebida predominantemente em leveduras e a segunda em fungos filamentosos e bactérias (Welsh *et al*, 1989).

De acordo com Nykanen *et al.*(1977), a síntese de alguns ésteres depende da espécie da levedura. A *Saccharomyces cerevisiae* produz maior quantidade desses compostos quando comparada à *Saccharomyces uvarum* e aquela os transferem mais facilmente para o exterior.

A síntese dos ésteres é relativamente mais importante quando as condições de fermentação são pouco favoráveis como temperatura baixa, anaerobiose e mostos pobres em nitrogênio (Bertrand, 1975; Ribéreau-Gayon *et al.*,1975; Bertrand *et al.*,1978). Segundo esses autores, se as condições de multiplicação celular são difíceis, uma parte do acetil-CoA formado, não utilizado para a formação de proteínas e lipídios das células de leveduras fica disponível para a síntese dos ésteres.

Alguns ésteres identificados nas sidras são: acetato de etila, acetato de hexila, butirato de etila, acetato de isoamila, hexanoato de etila, lactato de etila, octanoato de etila, decanoato de etila, succinato de dietila, acetato de 2-fenil etila e dodecanoato de etila. O 2-fenil etanol e seus ésteres contribuem significativamente para o aroma das sidras, conferindo aroma perfumado à bebida (Dürr, 1986).

O acetato de hexila é um dos ésteres característicos do aroma das sidras e seu aroma é descrito por Suomalainen (1981), como doce, frutado, similar ao aroma de maçãs e pêras.

Os ácidos graxos voláteis são resultantes dos cetoácidos correspondentes ou diretamente do ácido pirúvico. Os ácidos com número par de átomos de carbono são formados pelas leveduras segundo o mecanismo descrito por Lynen (1967), entretanto, as bactérias também podem produzi-los; em particular o ácido butírico aumenta durante a fermentação malolática.

De acordo com Bertrand (1981), os ácidos graxos livres têm função importante nos vinhos porque, segundo as leis dos equilíbrios químicos, eles se opõem parcialmente à hidrólise dos ésteres etílicos correspondentes.

Torres–Alegre (1982), demonstrou que existe uma relação linear entre a formação, na levedura, dos ácidos hexanóico, octanóico, decanóico e os ésteres etílicos correspondentes.

2.4 Os processos de desalcoolização

Os principais componentes do sabor das sidras podem ser quimicamente agrupados em ácidos, açúcares, fenóis e álcoois. Dentre os álcoois, o etanol é quantitativa e qualitativamente o mais importante e contribui para o sabor e aroma. Confere “corpo” à bebida, mascara a percepção dos ácidos e aumenta a percepção da doçura. Influencia na percepção do odor porque tem aroma “adocicado” e levemente “frutado” e afeta a volatilidade dos outros componentes ativos do aroma (Dürr, 1986).

O etanol em solução aquosa (100 mg.L^{-1}) tem sabor picante, adocicado e imprime sensação de calor na boca. Nos vinhos, o teor de 10% reduz a percepção da doçura (Ménoret *et al.*, 1990). Em um ensaio de desalcoolização por destilação a vácuo de um vinho com teor alcoólico de 12%, Ménoret *et al.*, (1990) constataram que o sabor que era agradável no início devido ao equilíbrio entre o etanol, a adstringência e a acidez, foi progressivamente alterado. Abaixo de 8%, as notas ácidas e adstringentes predominaram deixando a bebida muito “agressiva”. O desequilíbrio foi completo quando todo o álcool foi eliminado. A correção, ao final do processo, da doçura e da acidez pode minimizar esse efeito. No caso da cerveja e da sidra, duas ou três vezes menos alcoólicas no início, a desalcoolização altera menos o equilíbrio sensorial.

O vinho sem álcool já existe, conforme uma patente registrada no “Patentamt” da Alemanha, pela Weinkellerei Carl Junk, desde o ano de 1908. Esse produto foi exportado também para o Brasil, com a denominação “Weinohne alkohol” ou “vinho sem álcool”. No Brasil não existe uma lei própria para esse produto, mas o Ministério da Agricultura permite o registro, não com a denominação “Vinho sem Álcool”, mas como “Fermentado de Uvas Desalcoolizado” (Wines, 2003).

Segundo Mermelstein (2000), bebidas com teor diminuído em álcool representam um nicho de mercado e respondem, nos Estados Unidos, por cerca de 0,5% do total do mercado de vinhos. Cerca de 4,5 milhões de litros de vinho desalcoholizado são produzidos por ano nesse país por três vinícolas: Sutter Home, Ariel Vineyards e Canandaigua Wine CO.,Inc. A vinícola Ariel Vineyards produz cerca de um milhão de litros por ano.

Quatro tipos de bebidas são mais comumente comercializados (Ménoret *et al.*, 1990): bebidas fermentadas sem álcool - contendo menos de 0,5% de etanol – a ruptura é total entre o produto de origem e seu derivado sem álcool; bebidas com teor diminuído em álcool – um vinho com redução de 30% de seu teor inicial pode manter a maioria das características do produto de origem, dependendo do processo de desalcoholização empregado; bebidas fermentadas de baixo teor alcoólico – são geralmente fermentados espumantes doces e bebidas mistas à base de suco de frutas – são bebidas completamente reformuladas como cervejas ou vinhos misturados com sucos de frutas. Em uma revisão sobre as técnicas para a produção de cervejas com teor alcoólico diminuído, Kavanagh *et al.* (1991) observaram que os compostos voláteis retidos no produto final dependem da concentração inicial de etanol bem como do processo e das condições de operação e segundo Dürr (1986), o etanol afeta a volatilidade dos outros componentes ativos do aroma.

Existem vários processos para a diminuição do teor alcoólico das bebidas fermentadas tradicionais: redução de açúcares do mosto, processos térmicos clássicos ou melhorados, que utilizam membranas e utilização de microrganismos selecionados e/ou geneticamente modificados (Ménoret *et al.*, 1990).

Esses processos estão divididos em duas categorias (Stein, 1993): remoção pós-fermentação na qual o etanol é removido ou o produto é diluído após o processo fermentativo e fermentação manipulada na qual a produção do etanol é restrita durante a fermentação.

Quatro métodos são aprovados nos Estados Unidos pelo “Bureau of Alcohol, Tobacco and Firearms” para a remoção pós-fermentação do etanol de vinhos (Mermelstein, 2000): destilação a vácuo, processamento por congelamento, osmose reversa e coluna de cones rotativos sendo que os maiores produtores de vinho sem álcool daquele país usam osmose reversa e coluna de cones rotativos.

2.4.1 Destilação

O processo térmico mais comumente usado para a remoção do etanol em vinhos é a destilação em evaporadores ou em colunas. Os equipamentos dos processos originais foram sendo substituídos por equipamentos de destilação a vácuo, permitindo a separação do etanol em baixas temperaturas. Existem numerosas variações e modificações dos processos baseados nos princípios de destilação ou evaporação que resultaram em patentes (Déglon,1975; Thumm,1975; Boucher,1983, 1985, 1988; Schobinger *et al.*,1986; Trothe, 1990). Muitas dessas modificações incorporaram um ou mais métodos não-térmicos, tempos reduzidos de processo, temperaturas baixas e ajuste das propriedades sensoriais do produto final com a adição de suco concentrado (Pickering, 2000).

Perez *et al.* (1989) fizeram ensaios de desalcoholização de vinhos em uma planta piloto, por destilação a vácuo a 37 °C, em coluna de recheio de 5,6 metros de altura, 150 mm de diâmetro, e obtiveram três frações: o produto desalcoholizado, uma fração condensada de topo e os componentes voláteis não condensados recolhidos no selo líquido da bomba de vácuo. Foram feitas análises físico-químicas nas frações e no vinho desalcoholizado reconstituído com água ao volume inicial. O vinho obtido era praticamente isento de álcool e diferiu basicamente do vinho de partida na composição dos voláteis. Praticamente todo linalol e o 2,3-butanodiol ficaram retidos bem como uma parte do acetaldeído. O acetato de etila, metanol, propanol, isobutanol e os álcoois isoamílicos se distribuíram entre as duas frações condensadas. Essas variações não resultaram em diferenças sensoriais de aceitação do produto e os autores concluíram que o vinho desalcoholizado por essa técnica pode servir como base para a elaboração de bebidas de baixo teor alcoólico com a incorporação de suco concentrado, de suco de uva, de vinho e de água gaseificada.

Fundamentalmente, a destilação é uma operação de transferência de massa entre uma fase líquida e uma fase vapor. Em uma coluna de destilação, o componente menos volátil difunde-se da fase gasosa para a superfície do líquido e a substância mais volátil difunde-se a uma velocidade molar aproximadamente igual em sentido contrário. Na fase líquida tem lugar um processo semelhante, com a substância menos volátil difundindo-se, afastando-se da interface gás-líquido. As operações de destilação realizam-se em estágios nos quais duas correntes (um

líquido e um vapor) entram em contato para produzir duas outras correntes cujas composições diferem das originais. De um modo geral, o vapor que sai de um estágio acha-se enriquecido nos componentes mais voláteis. Já o líquido, sai com menor quantidade de voláteis do que o líquido alimentado (Luz Jr.,1993).

O processo de destilação pode ser conduzido de várias maneiras, sendo que cada uma apresenta vantagens e desvantagens em uma determinada situação particular. A destilação descontínua talvez seja o processo de separação mais antigo utilizado para misturas líquidas e nos últimos anos tem sido usada em separações de pequenas quantidades de produtos com alto valor agregado (Luz Jr.,1993).

A destilação descontínua é inerentemente um processo não estacionário, portanto a modelagem do mesmo é dinâmica por natureza. Diferentemente da destilação contínua, na qual as perturbações nas variáveis de processo são relativamente pequenas durante a operação, na destilação descontínua as composições nos pratos variam bastante durante o processo, podendo até em alguns casos ocorrer o desaparecimento completo de um ou mais componentes da mistura inicial primeiramente no refulvador e depois na coluna inteira (Luz Jr.,1993).

A destilação descontínua envolve a separação de uma mistura colocada inicialmente em uma caldeira e o fracionamento é feito até que certa quantidade de produto desejado seja destilada. A composição do topo varia durante a operação e um certo número de retiradas (cortes) de produtos pode ser feita (Luz Jr., 1993). A fração residual do fundo pode ou não ser recuperada como produto final. No caso da desalcolização de vinhos, o principal produto de interesse é a fração residual do fundo.

A coluna de destilação descontínua dita convencional, é composta dos seguintes equipamentos (FIGURA 4) (Luz Jr., 1993): caldeira ou refulvador onde a mistura a ser destilada é colocada e também onde será fornecido o calor necessário à separação; uma coluna de retificação colocada sobre a caldeira; acoplado à coluna um condensador, total ou parcial; vários tanques para estocar os produtos especificados, bem como os cortes intermediários (fora de especificação).

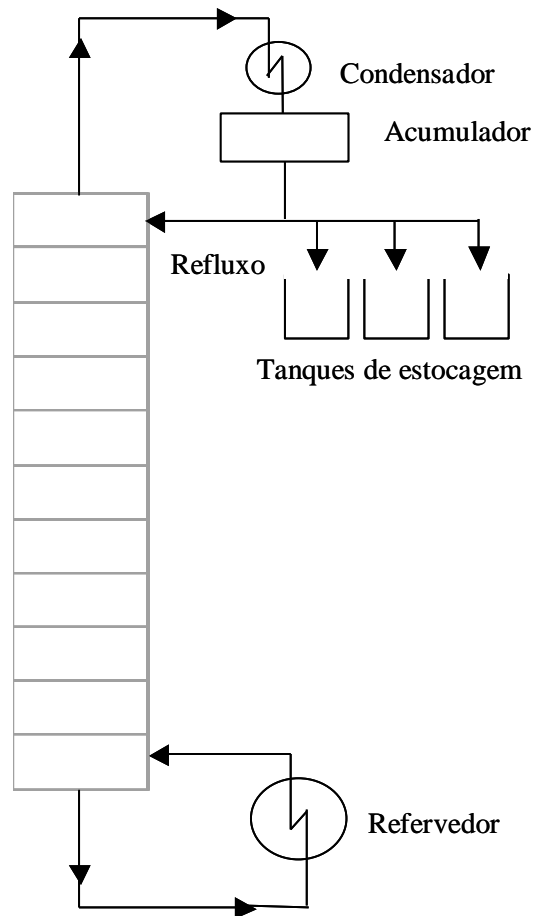


FIGURA 4 - Configuração da coluna de destilação descontínua convencional.

Sendo a destilação descontínua um processo dinâmico por natureza, a operação da coluna é dividida em dois períodos (Luz Jr.,1993): partida e produção propriamente dita (retirada de produtos).

2.4.1.1 Partida

O material a ser processado é colocado na caldeira e aquecido até sua temperatura de bolha. Após o enchimento dos pratos e do condensador de refluxo, a coluna opera sob refluxo total, sem retirada de destilado, até que a composição do destilado chegue à pureza desejada, quando atinge um estado estacionário. Considera-se estado estacionário como sendo o estado no qual as composições nos pratos tornam-se iguais entre dois instantes.

O primeiro passo pode ser considerado desprezível em relação ao tempo de destilação, porém os passos 2 e 3 podem ser longos, implicando em maior consumo de energia. Assim sendo, se possível, devem ser reduzidos.

A formação dos acúmulos pode ser realizada usando-se o líquido da caldeira no ponto de bolha o que conseqüentemente significa que as composições nos pratos e no condensador são iniciadas com a composição da carga inicial ou operando-se a coluna sem refluxo, isto é, só um estágio teórico. Os vapores são condensados e estocados no acumulador até que este tenha líquido suficiente para completar enchimento do acumulador e dos pratos da coluna. O passo 3 pode ser efetuado sob refluxo total, isto é todo o vapor de topo é condensado e retorna à coluna ou sob refluxo controlado, parte dos vapores condensados retorna como refluxo à coluna e outra parte retorna diretamente à caldeira (Luz Jr., 1993).

2.4.1.2 Retirada de Produtos

Esta etapa inicia com a retirada de destilado. O procedimento de operação está diretamente relacionado com a especificação do produto desejado e pode ocorrer quando a composição do destilado atinge a composição especificada; quando a coluna chega ao estado estacionário ou uma composição entre as duas anteriores. Quando a composição do destilado atinge a composição especificada encerra-se a fase de partida sob refluxo total. A partir deste momento, inicia-se a coleta de destilado e sua composição é mantida constante pela variação da razão de refluxo até que certa quantidade de produto seja estocada. A operação segue até o momento em que a razão de refluxo atinja um valor muito alto, isto é, um valor antieconômico. Este procedimento é conhecido como operação em refluxo variável ou operação com composição constante do destilado. Quando a coluna chega ao estado estacionário, isto é, as composições na coluna tornam-se constantes ao longo do tempo, a partida sob refluxo total pára. A retirada de destilado (corte) ocorre com razão de refluxo constante até que a composição do produto acumulado chegue à pureza especificada. No início, o destilado apresenta composição instantâneo maior do que a desejada e no final a composição será menor do que a especificada. Apesar dessas variações na composição instantânea do destilado, o produto final acumulado terá composição dentro da especificação. Este procedimento é chamado de operação a refluxo constante. No caso da composição entre as duas formas anteriores, uma técnica ótima de refluxo deve ser escolhida visando a satisfazer determinada função objetivo (tempo de destilação mínimo,

produção máxima, lucro máximo), mantendo-se certas restrições (quantidade produzida e pureza) no fim do processo. Os dois primeiros tipos de operação são mencionados na literatura como convencionais. Na operação sob razão de refluxo variável o controle da coluna fica mais difícil. Já sob refluxo constante o controle torna-se mais fácil, porém deve-se considerar sempre que a destilação por carga é um processo descontínuo, portanto a operação da coluna será difícil exigindo controle constante (Luz Jr., 1993).

2.4.1.3 Otimização do processo de destilação por cargas

O objetivo é manter uma técnica ótima de operação, isto é, criar uma seqüência de controle da coluna em operação descontínua, que leve a um ótimo desempenho. Os critérios de otimização são definidos por uma função objetivo e restrições e o processo é caracterizado por um modelo dinâmico. Os critérios mais utilizados são a maximização de uma função lucro; a maximização das quantidades produzidas e a minimização do tempo de uma carga, sujeitas a uma restrição do sistema. As restrições mais comuns são a quantidade e a pureza do produto em um determinado momento ou no final do processo. A variável de controle mais empregada é a razão de refluxo (Luz Jr., 1993).

2.4.1.4 Critério para a definição da razão de refluxo da coluna

A razão de refluxo visa satisfazer determinada função objetivo: tempo de destilação mínimo, produção máxima ou lucro máximo, mantendo-se certas restrições como a quantidade produzida e pureza no fim do processo (Luz Jr., 1993).

A razão de refluxo ótima ou razão de refluxo econômica é aquela que minimiza os custos totais, isto é, a somatória dos custos fixos e operacionais (ou variáveis). Devem-se avaliar os efeitos da razão de refluxo na recuperação dos componentes e composição da carga inicial, no consumo de energia ($J.h^{-1}$) e na produtividade. Quando se aumenta gradativamente a razão de refluxo a partir da razão mínima, o número de pratos vai decrescendo. Também aumenta, junto com a razão de refluxo, o tamanho do condensador e da caldeira. Esses elementos participam da composição do custo fixo, considerado como uma fração do

investimento. Assim, ao se aumentar a razão de refluxo, os custos fixos decrescem rapidamente no começo, passam por um mínimo e voltam a crescer. Já os custos operacionais, representados pelos consumos de vapor de aquecimento e de água para condensar o refluxo, crescem continuamente com o aumento da razão de refluxo (Copersucar, 1987).

Com relação ao consumo de energia, é mais fácil manter constante o calor fornecido à caldeira. Quanto maior for o calor fornecido e maior a razão de refluxo, maiores serão as vazões de líquido e vapor que passam pela coluna, assim, se a mesma não tiver sido dimensionada para suportar tais mudanças, poderão ocorrer problemas de inundação ou de “choro” nos pratos, se a coluna for de pratos, ou de “molhamento” do recheio, se esta for de enchimento (Copersucar, 1987).

2.4.1.5 Técnicas específicas de operação

Pode-se operar o equipamento mantendo-se constantes a vazão de vapor que deixa a caldeira ; a taxa de destilado ou o calor fornecido à mistura na caldeira. Para a operação com vazão de vapor constante é necessário aumentar o calor fornecido, conforme a mudança na composição do líquido que ocorre na caldeira. Quando a técnica for a da vazão constante de destilado, a razão de refluxo também deverá ser mantida constante pelo fluxo de vapor de topo enviado ao condensador. Operar o equipamento mantendo-se constante o calor fornecido à mistura dependerá da capacidade de transferência de calor do próprio equipamento (Luz Jr., 1993).

2.4.2 Desalcoolização com o uso do frio

No processo de desalcoolização por congelamento, o vinho é resfriado para formar cristais de gelo que ascendem no tanque, aumentando a concentração do etanol no líquido. Metade do líquido concentrado é drenada e o líquido restante no tanque é aquecido para derreter os cristais de gelo. O vinho resultante apresenta menor concentração em etanol, mas também nos outros constituintes (Mermelstein, 2000). Outra forma de desalcoolização por congelamento é denominada de crioconcentração, processo no qual a água é removida por centrifugação e o álcool

no líquido residual concentrado pode ser separado por destilação a vácuo. Uma desvantagem a ser considerada é o elevado custo do processo (Villettaz,1986).

2.4.3 Coluna de cones rotativos

A coluna de cones rotativos foi desenvolvida nos Estados Unidos na década de 1930 e modificada na Austrália. Tem sido utilizada nos processos de desalcoolização de vinhos e apresenta como vantagens: alta eficiência de separação, tempo de residência curto, danos mínimos ao produto pelo efeito da temperatura e boa eficiência energética (Sykes *et al.*,1992; Gray,1993; Pyle,1994). Essa coluna de retificação multi-estágios de película fina de aproximadamente 4 m de altura e 1 m de diâmetro é formada por uma série de cones estacionários e rotativos distribuídos alternadamente. O vinho é alimentado no topo da coluna, flui sobre a superfície do primeiro cone fixo formando uma fina película e passa para o segundo cone rotativo. A força centrífuga espalha o líquido que é projetado desse cone, goteja sobre o próximo cone estacionário e assim sucessivamente. O gás de arraste, geralmente vapor de baixa pressão, entra na coluna pelo fundo e flui para cima, arrastando os constituintes voláteis do filme líquido. Esses voláteis podem ser condensados e recuperados. O vinho circula pela coluna até que o teor alcoólico desejado seja atingido. Os voláteis separados e condensados são recolocados no vinho desalcoolizado e o álcool pode ser recuperado como subproduto (Mermelstein, 2000).

2.4.4 Desalcoolização por membranas

Membranas semipermeáveis têm sido estudadas para a separação do álcool de bebidas fermentadas desde os anos 1970. Osmose reversa e diálise são dois dos processos industriais que fazem uso dessas membranas e que são explorados comercialmente (Pickering, 2000).

A osmose reversa é uma técnica comumente usada para a desalcoolização de vinhos. O produto é bombeado a uma pressão maior do que a pressão osmótica (40 a 60 bars), através de uma membrana porosa que é permeável aos compostos de baixo peso molecular como o etanol e a água, mas não aos outros componentes

dissolvidos (Villettaz,1986). Essa difusão seletiva dos compostos através da membrana é baseada no peso molecular ou no tamanho do poro. Os compostos maiores como ácidos orgânicos e compostos fenólicos ficam retidos e são concentrados. O mesmo volume de água removido deve ser adicionado ao vinho para restaurar o balanço. Essa etapa pode limitar o uso da técnica nos países nos quais a adição de água ao vinho é proibida (Mermelstein, 2000).

A diálise usa a diferença de concentração para a transferência de matéria através de membranas, ao contrário da osmose reversa que utiliza a pressão hidrostática como força impulsora (Scott; Huxtable, 1995).

Membranas de acetato de celulose em módulos de diálise podem ser utilizadas para a desalcoolização de bebidas. O etanol e os compostos de baixo peso molecular são removidos do vinho “passando” seletivamente para a água. O vinho pode também ser dialisado contra um vinho desalcoolizado por destilação a vácuo ao invés de utilizar-se a água. Como o gradiente de concentração existe somente para o álcool, os outros compostos são preservados. A vantagem é que o processo ocorre sem pressurização (Wucherpfennig *et al.*,1986; Scott; Huxtable, 1995).

A pervaporação é definida como a técnica na qual uma mistura líquida é separada por vaporização parcial através de uma membrana seletiva permeável sob vácuo parcial. A membrana determina a seletividade do processo e sua aplicação. Polímeros hidrofóbicos como polidimetil siloxane (PMDS) ou poli octil metil siloxane (POMS) podem ser usadas para a separação de misturas diluídas de compostos orgânicos e água. A força motora para a transferência de massa através da membrana é um gradiente de potencial químico que é estabelecido por uma diferença de pressão parcial. Essa diferença na pressão parcial é normalmente conseguida reduzindo-se a pressão do lado do permeado com o auxílio de um condensador e de uma bomba de vácuo (Karlsson; Trägårdh, 1997).

Fundamentalmente, a transferência através da membrana ocorre em três etapas consecutivas (Karlsson; Trägårdh, 1997): absorção seletiva dos permeantes do lado da alimentação; difusão seletiva através da membrana e dessorção do vapor permeado. Os vapores permeados são condensados e recuperados.

Uma das maiores vantagens da pervaporação é que pode ser realizada em baixas temperaturas ou em temperatura ambiente sendo indicada para a separação de compostos termossensíveis (Karlsson; Trägårdh, 1997).

2.4.5 Redução dos açúcares fermentescíveis

A redução dos açúcares fermentescíveis do mosto pode ser feita utilizando-se frutas não maduras, diluindo-se o suco ou usando-se enzimas como a glucose-oxidase (Pickering, 2000). O uso dessa enzima para a produção de vinhos com teor alcoólico diminuído foi introduzido por Villettaz (1986, 1987) e Heresztyn (1987). Essa enzima é uma desidrogenase que catalisa a oxidação da glucose a gluconolactona em presença do oxigênio molecular e na seqüência, a gluconolactona é hidrolisada não enzimaticamente a ácido glucônico. Como a fração dos açúcares fermentescíveis da uva é de aproximadamente 50% glucose e 50% frutose, o vinho resultante da fermentação do mosto tratado enzimaticamente teria metade do álcool potencial, porém, a hidrólise não enzimática da gluconolactona a ácido glucônico pode alterar as características sensoriais dos vinhos tornando-os excessivamente ácidos (Pickering, 2000).

Análises químicas feitas em vinhos brancos obtidos de mostos tratados com glucose-oxidase por Pickering *et al.* (1999), demonstraram que se pode obter a diminuição de mais de 40% do teor alcoólico potencial, que a concentração de ácido glucônico é elevada e que houve pequenas alterações em outros constituintes não voláteis no produto final.

Mais comum, porém com aplicações comerciais limitadas no momento, leveduras com baixa eficiência fermentativa e/ou modificadas geneticamente podem ser usadas para a obtenção de mostos com teor diminuído de açúcares ou fermentados com teor diminuído em etanol (Pickering, 2000).

Para a redução dos açúcares do mosto, culturas contínuas ou semicontínuas de leveduras podem ser conduzidas sob condições que levem à produção de CO₂ e água preferencialmente à produção de etanol (Kapelli, 1989).

O metabolismo dos açúcares pode também ser direcionado para a produção de glicerol. Michnick e Salmon (1994) isolaram mutantes parcialmente resistentes ao efeito da glicose de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* deficientes na atividade da fosfogliceromutase. Quando esses mutantes cresceram em condição de anaerobiose usando como substrato somente etanol e glicose, converteram esse último substrato em glicerol. As características fisiológicas desses mutantes indicam que essas cepas poderiam ser usadas para a produção de componentes do aroma de vinhos que se perdem durante os processos físicos de desalcoolização.

2.4.6 Desalcoolização com gases comprimidos

A extração com gases comprimidos é uma operação unitária que explora as características dos fluidos quando próximos ou acima do seu ponto crítico. Quando comparado com um gás em condições ambientes, o fluido supercrítico apresenta aumento da capacidade de solubilização e maior coeficiente de difusão, além de menor viscosidade quando comparado com o líquido correspondente. Essas características permitem um poder de solvatação similar aos líquidos, mas com propriedade de transferência de massa aumentada (Pickering, 2000).

Fluidos supercríticos apresentam alta densidade, baixa viscosidade e difusividade intermediária entre gases e líquidos. Essas propriedades os tornam solventes potencialmente interessantes também para a indústria alimentícia. O CO₂ supercrítico é excelente solvente para um grande número de compostos aromáticos sensíveis à temperatura (Pickering, 2000).

São apontadas como vantagens – tecnologia limpa, solvente atóxico, extratos de alta qualidade, versatilidade variando-se pressão e temperatura, eficiência e seletividade (Pickering, 2000).

Um estudo de desalcoolização de sidra por extração com dióxido de carbono foi realizado por Medina e Martínez (1997) em uma planta piloto. As extrações com dióxido de carbono supercrítico e líquido foram feitas em uma faixa de pressão de 80– 250 bar e temperaturas de 20 e 40 °C. Os melhores resultados sugeriram que é possível obter-se sidra com teor reduzido em álcool e sem aromas em dois estágios de extração: a fração de aromas foi obtida por extração a 40 °C e 125 bar e o etanol foi removido a 40 °C e 250 bar. A fração de aromas foi recolocada e a nova bebida com teor alcoólico menor do que 1% foi considerada aceitável, porém com sabor menos intenso do que o da sidra original. Os autores sugerem que essa alteração no sabor pode estar relacionada à redução na percepção do aroma que ocorre com a remoção do etanol que é o componente volátil mais importante.

Carnacini *et al.* (1989) citados por Pickering (2000) compararam diferentes processos para a eliminação do etanol e recuperação de aromas e concluíram que a extração com dióxido de carbono supercrítico mostrou-se o método mais promissor. As pesquisas visavam estudar como sistemas multicomponentes (mistura de aromas de bebidas) interagem durante a extração com fluido supercrítico.

2.5 Vinhos fortificados

Quando o teor alcoólico de um vinho é maior do que o teor originado pela levedura tem-se um “vinho fortificado”. Usado como método de conservação, a fortificação ou a adição de destilado de vinho (“brandy”) ou de aguardente passou a ser usada também para aumentar o teor alcoólico de alguns tipos especiais de vinhos. Uvas muito maduras (aproximadamente 25 °Brix) são utilizadas no processo fermentativo tradicional de produção de vinhos fortificados. A fermentação é conduzida até que o teor de sólidos solúveis seja igual a 8 ° Brix. Faz-se então a adição de destilado de vinho ou de álcool neutro para que o teor alcoólico atinja 18°GL. Essa concentração de álcool diminui a atividade fermentativa e após um ou dois dias a fermentação pára. O teor final de sólidos solúveis é da ordem de 6° Brix (Wines, 2003). Se o destilado for adicionado após o término da fermentação, o vinho será seco, como é o caso do Jerez, famoso fortificado espanhol. O vinho do Porto é o mais popular dos vinhos fortificados mas outros exemplos são o Madeira, o Málaga, o Sherry e o Marsala (Tipos de vinhos, 2003).

2.6 Análise sensorial

A análise sensorial pode ser definida como uma disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações em alimentos que possam ser percebidas pelos sentidos da visão, olfato, tato, sabor e audição, utilizando conhecimentos de Ciência de Alimentos, Fisiologia, Psicologia e Estatística. Deve oferecer subsídios que possa traduzir-se em melhoria de qualidade, observação dos efeitos do processamento ou armazenamento e caracterização de produtos em estudo (Simpson *et al.*,1998).

A existência de técnicas para testes de caracterização sensorial permite a determinação do grau de aceitação, preferência ou diferença entre amostras. No entanto, essas técnicas existentes não dão uma total descrição do produto com relação às características sensoriais percebidas por um grupo de pessoas não treinadas. Já os métodos analíticos descritivos descrevem as características percebidas e suas intensidades (Simpson *et al.*,1998).

A análise descritiva quantitativa (ADQ) foi desenvolvida por Stone *et al.* (1974) e consiste em uma prova sensorial de grande interesse, na qual indivíduos treinados identificam e quantificam as propriedades sensoriais de um produto ou um ingrediente. A técnica inclui uma avaliação e comparação de sabores, discriminando-os seja pela descrição das impressões do produto como um todo, como por suas características individuais (Stone *et al.*, 1974; Dutcosky, 1996).

Entre as aplicações mais freqüentes da análise sensorial descritiva temos: controle de qualidade; melhoramento e desenvolvimento de novos produtos; observação de mudanças no produto com relação aos efeitos do tempo ou da embalagem; investigação dos efeitos dos ingredientes ou variáveis no processamento e na qualidade sensorial final do produto; estudos de aceitabilidade ou preferência do consumidor e correlação com medidas instrumentais (Damasio; Costell, 1991; Stone; Sidel, 1998; Murray *et al.*, 2001).

Segundo Rohm *et al.* (1994), citados por Piazzon (2003), os princípios essenciais da ADQ são: o uso de julgadores selecionados, treinados e guiados por um líder; o emprego de fichas descritivas desenvolvidas pela equipe; o uso de escalas não estruturadas de 9 cm, ancoradas aquém dos extremos com termos que indicam a intensidade do atributo que está sendo avaliado; repetidas avaliações; o tratamento estatístico pela análise de variância (ANOVA) e a representação gráfica dos resultados. De acordo com esses princípios, a ADQ permite descrever diferenças no produto, bem como o desempenho da equipe e a variabilidade entre produtos (Piazzon, 2003).

Uma alternativa para a representação gráfica dos resultados da ADQ, a qual permite a análise global dos resultados, é a técnica multivariada de Análise de Componente Principal (ACP). A ACP mostra as relações existentes entre as amostras e também evidencia o que mais caracteriza cada uma (Stone; Sidel, 1993).

As vantagens da ADQ sobre outros métodos de avaliação são: a confiança no julgamento de uma equipe composta de 10 a 12 julgadores treinados; o desenvolvimento de uma linguagem descritiva objetiva, mais próxima da linguagem do consumidor; desenvolvimento consensual da terminologia descritiva a ser utilizada que implica em maior concordância de julgamentos e ainda, os produtos são analisados com repetições por todos os julgadores em testes às cegas sendo os resultados analisados estatisticamente. Como nessa análise a descrição é

necessariamente verbal, a linguagem que se utiliza vai influir decisivamente na exatidão e na utilidade da informação que se obtém (Stone; Sidel, 1993).

Existem diferentes métodos para a geração dos termos que descrevem as distintas características de um produto. Dentre eles pode-se destacar o método que consiste em apresentarem-se amostras aos pares para os julgadores, sendo solicitado que eles elaborem duas listas, uma de termos que representem similaridades e outra de termos que representem diferenças entre elas gerando-se assim um elevado número de termos. Esse método é supervisionado por um líder, que orienta a discussão dos possíveis termos descritivos mais utilizados que irão constituir a ficha de análise (Piazzon, 2003).

A qualidade dos dados sensoriais está diretamente relacionada com a equipe de julgadores utilizada, o que torna a seleção e o treinamento de essencial importância para a análise. A seleção e o treinamento da equipe de julgadores podem ser realizados utilizando-se diferentes métodos em função dos objetivos da análise. São essenciais, porém, o interesse, a disponibilidade e a normalidade na percepção fisiológica do julgador. Para a seleção dos julgadores é necessário considerar ainda a capacidade discriminatória, a reprodutibilidade e a concordância com a equipe (Piazzon, 2003).

Em testes sensoriais descritivos existem, entretanto, cinco causas principais de divergência nas respostas dos julgadores: efeito de interpretação (emprego de diferentes termos ou combinações de termos para descrição do produto); efeito de nível (variação na avaliação da intensidade do atributo); efeito de faixa (tendência do julgador a utilizar diferentes partes da escala); percepção de diferentes estímulos e variação entre sessões. Esses efeitos podem ser minimizados pelo treinamento e detectados na seleção final dos julgadores. No entanto, particularmente quando se tem uma equipe pequena, retirar os resultados dos provadores pode ser um problema (OP & P Product Research, 1998).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Matéria-prima

A matéria-prima para a obtenção do mosto consistiu de 175 Kg de maçãs da cultivar Belgolden (FIGURA 5) safra 2001-2002, provenientes da região de Fraiburgo-SC, mantidos sob refrigeração em câmara de estocagem controlada por aproximadamente 5 meses.



FIGURA 5 - Maçãs da cultivar Belgolden

3.1.1 Cepas liofilizadas comerciais:

Saccharomyces cerevisiae -ICV D47 – Lallemand INC.,

Saccharomyces cerevisiae - CK - Lallemand INC,

Saccharomyces cerevisiae uvarum - Fermol crioaromae – Pascal Biotech -

Cepa criotolerante.

3.1.2 Ativadores de fermentação:

Enovit – A&B Bioquímica Latino – Americana.

Composição – Sulfato e fosfato de amônio dibásico, dicloridrato de tiamina, tartarato de potássio e bentonita ativada.

Fermoplus * Blanc – Pascal Biotech.

Composição – Partes de leveduras 40%, fosfato de amônio dibásico 30%, caseinato de potássio 13%, tanino enológico 7%, celulose 7%, enzima pectinolítica 2,94% e cloridrato de tiamina 0,06%.

3.1.3 Enzima

Enzima pectinolítica Pectinex 100L – Novo Enzymes.

3.1.4 Produtos utilizados como padrões nos testes de reconhecimento de odores

Fermento biológico para panificação, cerveja, queijo, manteiga, maçã, vodka, vinagre, limão, canela, vinho, cravo, mel, camomila, café, chocolate.

3.2 Métodos

3.2.1 Preparo do suco despectinizado

O suco despectinizado que seria utilizado como mosto foi preparado de acordo com fluxograma (FIGURA 6). As maçãs foram classificadas, lavadas, cortadas em processador doméstico e o suco foi obtido em três ciclos sucessivos de prensagem (prensa hidráulica marca Eureka - Hoppe Ind. Ltda, Brasil). Após a despectinização e a trasfega, foi envasado em garrafas de vidro de 660 mL fechadas com tampas metálicas e pasteurizado em banho maria a 90 °C por 20 minutos, seguido de um rápido resfriamento em água corrente. O produto foi mantido à

temperatura ambiente até o momento do uso quando foi feita a caracterização físico-química.

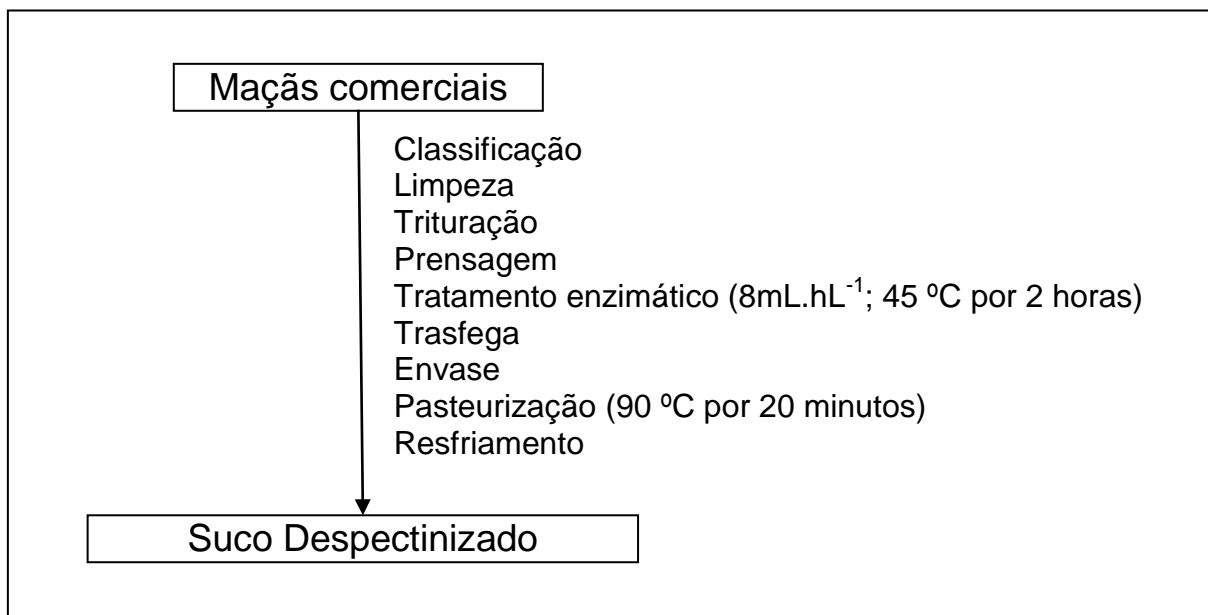


FIGURA 6 - Fluxograma da obtenção do suco despectinizado

3.2.2 Preparação do inóculo

Os inóculos foram preparados com 25 g.hL⁻¹ de cada cepa liofilizada comercial reidratadas em mosto de maçãs e mantidas sob agitação por 24 horas. Foram adicionados ao mosto na proporção de 1% do volume de trabalho.

3.2.3 Ensaio de fermentação em escala de laboratório

Diferentes cepas de leveduras bem como o efeito das condições do processo (temperatura e suplementação nutricional) foram testadas para a obtenção do fermentado usado no processo de desalcoolização, de acordo com o esquema da Tabela 3. Foram feitas fermentações do mosto de maçãs com uma cepa criotolerante de *Saccharomyces cerevisiae uvarum* – Fermol crioaromae utilizada industrialmente para a produção de vinhos com adição de ativadores de fermentação comerciais Enovit (ensaio 1), Fermoplus (ensaio 2) e sem adição dos

ativadores (ensaio testemunha). Foram testadas duas outras cepas comerciais de *Saccharomyces cerevisiae*: cepa ICV D47 em fermentações em temperatura entre 23-26 °C (ensaio 3) e em temperatura entre 8 e 10 °C (ensaio 4) e cepa CK em fermentações em temperatura 23-26 °C (ensaio 5) e em temperatura entre 8 e 10 °C (ensaio 6).

Foram transferidos 3,5 L de mosto sulfitado para fermentadores de vidro de 4 L, fechados com batoque hidráulico. As fermentações foram realizadas em duplicata, em temperatura ambiente sendo a temperatura mínima de 23 °C e a temperatura máxima de 26 °C e em temperatura entre 8 e 10 °C. Os ativadores de fermentação (Enovit e Fermoplus) foram adicionados no início do processo conforme indicação do fabricante.

TABELA 3 -Condições dos ensaios de fermentação em escala de laboratório.

Condições	Ensaio 1	Ensaio 2	Testemunha	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Ensaio 6
Suplementação nutricional							
Enovit	X						
Fermoplus		X					
Cepas de leveduras							
CK						X	X
ICV D-47				X	X		
Fermol	X	X	X				
Crioaromae							
Temperatura							
8-10 °C	X	X	X		X		X
23-26 °C				X		X	

Nota: (X) condições utilizadas

Amostras de 5ml foram retiradas durante o processo fermentativo para a contagem do número de células viáveis e para as análises químicas.

3.2.4 Análises

3.2.4.1 Crescimento celular

A avaliação do crescimento celular foi feita através da contagem do número de células ao microscópio Nikon E200 em célula Fuchs–Rosenthal, após coloração com azul de metileno que permite a estimativa da porcentagem de células vivas presentes em uma cultura. As células mortas, dentro das quais as enzimas estão inativas, colorem-se de azul. A porcentagem de células não coloridas é uma medida da viabilidade.

Coloca-se uma gota da amostra homogeneizada sobre a célula e efetua-se a contagem ao microscópio, sobre cinco retângulos em diagonal (cada retângulo é formado por 4X5 quadrados). O resultado é expresso como a média do número de células $\times 100 = \text{células/mm}^3$ ou a média do número de células $\times 100\ 000 = \text{células/ml}$.

3.2.4.2 Análises físico–químicas

Foram feitas análises físico–químicas para a determinação de sólidos solúveis totais ($^{\circ}$ Brix); pH; acidez total; açúcares redutores; açúcares totais; nitrogênio total; nitrogênio amoniacal; cinzas; potássio, fósforo e magnésio; fenóis totais. As amostras dos fermentados foram previamente desgaseificadas durante 5 minutos em banho ultra-som USC1400.

O teor de sólidos solúveis totais foi determinado pelo método de refratometria e expresso como graus Brix (IAL, 1976).

O pH foi determinado pelo método potenciométrico em potenciômetro digital II 8424 Hanna Instruments (Ough; Amerine, 1988).

A acidez titulável e a cor foram determinadas de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1976).

Os açúcares redutores totais foram determinados pelo método colorimétrico de Somogyi-Nelson (Somogyi, 1952) que se fundamenta na propriedade da glicose e de outros açúcares redutores de reduzir o reativo cupro alcalino, formando óxido

cuproso. Esse composto em presença do reativo arsênio – molibdato de sódio (reativo de Nelson), forma um complexo de óxido de molibdênio de cor azul estável, cuja intensidade é medida por fotocolorimetria. Essa intensidade é proporcional aos teores de açúcares.

O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método de Kjeldhal e o teor de nitrogênio amoniacal, segundo Tedesco (1995). As amostras foram previamente, centrifugadas (3000 rpm por 20 minutos) e o sobrenadante filtrado em papel de filtro qualitativo.

Os compostos fenólicos foram analisados colorimetricamente pelo método de Folin-Ciocalteu. Os resultados foram expressos em mg.L^{-1} catequina (IAL, 1976).

Os teores de cinzas, potássio, fósforo e magnésio foram determinados de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1976).

3.2.4.3 Análises cromatográficas

Os compostos etanol, metanol, propanol-1, metil2- propanol1, metil2- butanol1, metil3- butanol1, etanal, acetato de etila, butirato de etila, acetato de isoamila, hexanoato de etila, acetato de hexila, lactato de etila, hexanol, octanoato de etila, ácido isobutírico, ácido butírico, decanoato de etila, ácido isovalérico, succinato de dietila, acetato de 2-fenil etila, dodecanoato de etila, ácido hexanóico, 2-fenil etanol, ácido octanóico foram determinados por cromatografia em fase gasosa. As amostras foram previamente centrifugadas (3 000 rpm por 20 minutos) e o sobrenadante filtrado em papel de filtro qualitativo.

A quantificação do etanol foi feita em cromatógrafo a gás CG Master, equipado com detector de ionização de chama, coluna capilar de 30m de comprimento com diâmetro interno de 0,53 mm e filme de polietilenoglicol com 1 μm de espessura. A temperatura do injetor foi de 220 $^{\circ}\text{C}$, a do detector de 250 $^{\circ}\text{C}$ e a pressão do gás de arraste (nitrogênio) igual a 5 Psi. Em 10ml da amostra ou da solução de referência foi adicionado 1ml do padrão interno (solução de metanol 10% em água (p/v)) e foi injetado 1 μl , no modo sem divisão da amostra (“splitless”). Como solução de referência foi utilizado etanol 5% em água (p/v). As condições de análise foram: programação de uma isoterma de 40 $^{\circ}\text{C}$ por 5 minutos, elevação de

3^oC/minuto até 65^oC, elevação de 20^oC /minuto até 200^oC em atenuação 1000. Para a determinação das concentrações dos componentes foi utilizada a relação:

$$C = A \cdot \frac{h}{H} \cdot \frac{I}{i}$$

onde:

C= concentração do componente (mg.L⁻¹)

A= concentração da substância na solução de referência (mg.L⁻¹)

h=área do pico da substância na amostra

H= área do pico da substância na referência

I= área do pico do padrão interno na referência

i= área do pico do padrão interno na amostra

A metodologia foi validada de acordo com Leite (2002).

As determinações de ésteres etílicos de ácidos graxos, acetatos de álcoois superiores, ácidos graxos livres, ácidos graxos voláteis, succinato de dietila, lactato de etila, acetato de etila hexanol-1 e 2 fenil-etanol foram feitas segundo Bertrand (1975), em cromatógrafo gasoso CG Master, equipado com detector de ionização de chama, coluna capilar de 30m de comprimento, com diâmetro interno de 0,53 mm e filme de polietilenoglicol com 1 µm de espessura. A temperatura do injetor foi de 220 °C, a do detector de 250^oC e a pressão do gás de arraste (nitrogênio) igual a 5 Psi. Foi injetado, no modo sem divisão da amostra, 1 µl de amostra contendo padrão interno. As condições de análise foram: programação de uma isoterma a 38 °C durante 5 minutos, elevação de 3^oC/minuto até atingir 200^oC e manutenção da isoterma a 200^oC por 20 minutos. A composição da solução de referência para a análise de ésteres etílicos de ácidos graxos, acetatos de álcoois superiores, ácidos graxos livres, ácidos graxos voláteis, hexanol-1 e 2 fenil-etanol está demonstrada na Tabela 4.

TABELA 4 -Composição da solução de referência para a análise de ésteres etílicos de ácidos graxos, acetatos de álcoois superiores, ácidos graxos livres, ácidos graxos voláteis, hexanol-1 e 2 fenil-etanol.

Componentes	Concentração (mg.L ⁻¹)
2 Fenil- etanol	386,3
Acetato de 2-fenil etila	4,9
Acetato de hexila	7,2
Acetato de isoamila	39,5
Ácido butírico	16,9
Ácido hexanóico	46,9
Ácido isobutírico	13,6
Ácido isovalérico	14,05
Ácido octanóico	79,25
Butirato de etila	68,5
Decanoato de etila,	3,55
Dodecanoato de etila	8,2
Hexanoato de etila	16,8
Hexanol	8,45
Lactato de etila	139,25
Octanoato de etila,	15,9
Succinato de dietila	4,55

Para a determinação das concentrações dos componentes foi utilizada a relação:

$$C = A \cdot \frac{h}{H} \cdot \frac{I}{i}$$

onde:

C= concentração do componente (mg.L⁻¹)

A= concentração da substância na solução de referência (mg.L⁻¹)

h= área do pico da substância na amostra

H= área do pico da substância na referência

I= área do pico do padrão interno na referência

i= área do pico do padrão interno na amostra

As determinações de etanal, propanol-1, metil2- propanol1, metil2-butanol1, metil3-butanol1, metanol e acetato de etila foram feitas segundo Bertrand (1981), em cromatógrafo gasoso CG Master, equipado com detector de ionização de chama, coluna capilar de 30m de comprimento com diâmetro interno de 0,53 mm e filme de polietilenoglico com espessura de 1 µm. A temperatura do injetor foi de 220 °C, a do detector de 250°C e a pressão do gás de arraste (nitrogênio) igual a 5 Psi. Foi

injetado, no modo sem divisão da amostra, 1 µl de amostra contendo padrão interno. As condições de análise foram: programação de uma isoterma de 38^oC por 15 minutos, elevação de 3^oC/minuto até 90^oC, elevação de 20^oC /minuto até 200^oC e manutenção da isoterma a 200^oC por 20 minutos. A composição da solução de referência para a determinação de etanal, propanol-1, metil2- propanol1, metil2-butanol1, metil3-butanol1, metanol, acetato de etila está demonstrada na Tabela 5.

TABELA 5 - Composição da solução de referência para a determinação de etanal, propanol-1, metil2- propanol1, metil2-butanol1, metil3-butanol1, metanol, acetato de etila.

Componentes	Concentração (mg.L ⁻¹)
Acetato de etila	144,0
Álcoois isoamílicos	255,2
Etanal	72,4
Metanol	170,5
Metil2 – propanol -1	65,4
Propanol -1	8,0

As condições de análise foram: Programação de uma isoterma de 38^oC por 5 minutos, elevação de 3^oC/minuto até 90^oC, elevação de 20^oC /minuto até 200^oC e manutenção da isoterma a 200^oC por 20 minutos. Temperatura do injetor de 220^oC e do detector de 250^oC. Foi injetado, no modo “splitless” (sem divisão da amostra), 1µl de amostra contendo padrão interno com nitrogênio como gás de arraste. Para a determinação das concentrações dos componentes foi utilizada a relação:

$$C = A \cdot \frac{h}{H} \cdot \frac{I}{i}$$

onde:

C= concentração do componente (mg.L⁻¹)

A= concentração da substância na solução de referência (mg.L⁻¹)

h= área do pico da substância na amostra

H= área do pico da substância na referência

I= área do pico do padrão interno na referência

i= área do pico do padrão interno na amostra

3.2.5 Desalcoolização por destilação a vácuo em processo descontínuo

O equipamento piloto utilizado nos experimentos de desalcoolização por destilação descontínua a vácuo está representado na Figura 7.

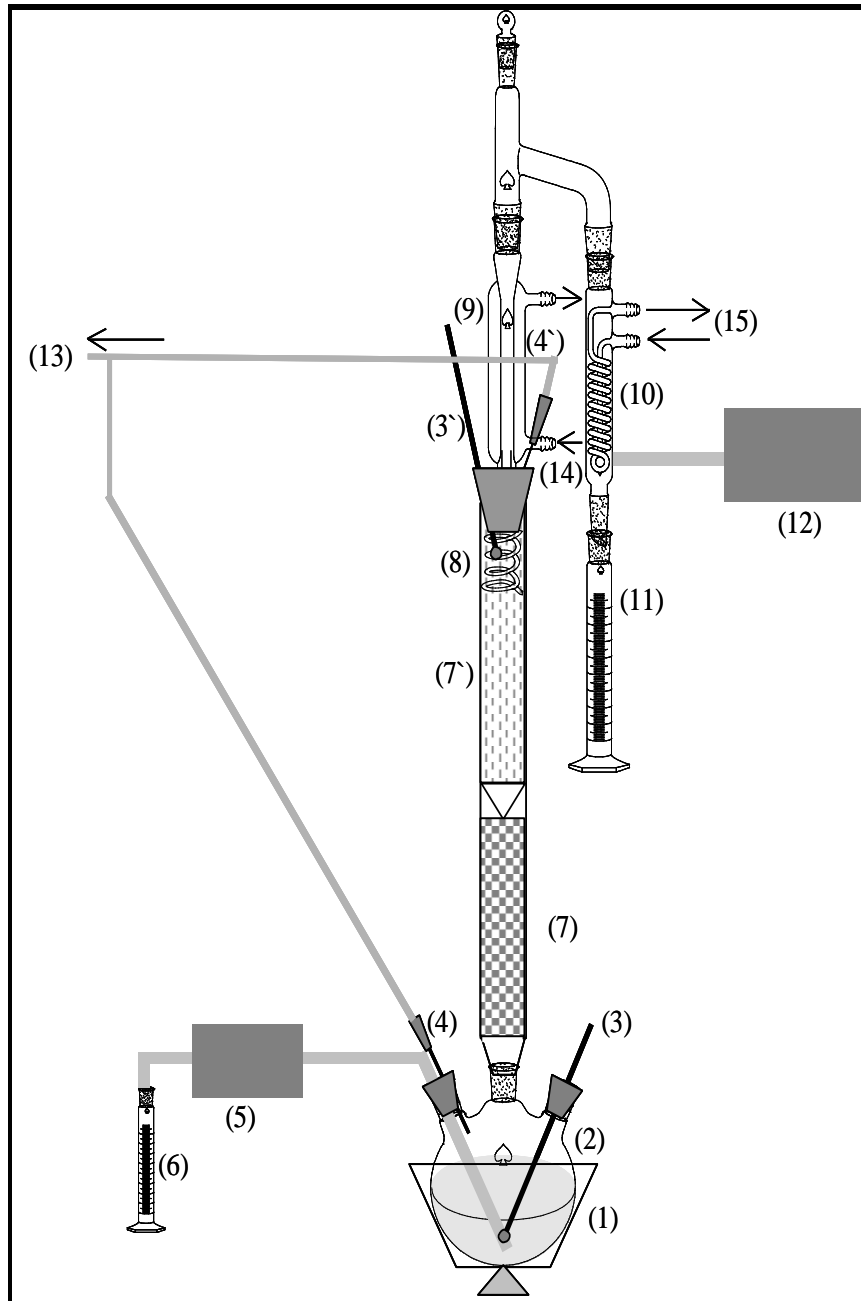


FIGURA 7 - Esquema da coluna piloto de destilação.

Legenda: (1) Manta de aquecimento; (2) Caldeira; (3) Termômetro de fundo; (4) Ponto de tomada de pressão; (4') Ponto de tomada de pressão; (5) Bomba peristáltica; (6) Coletor de amostra; (7) Sessão inferior da coluna de recheio; (7') Sessão superior da coluna de recheio; (8) Serpentina interna; (9) Condensador 1; (10) Condensador 2; (11) Coletor de destilado; (11) Coletor de destilado; (12) Bomba de vácuo; (13) Linha para o manômetro; (14) Linha de resfriamento à água; (15) Linha de resfriamento a álcool-água.

A coluna de destilação de vidro de 1,2 m de altura e diâmetro de 80mm e foi dividida em duas seções iguais por um distribuidor de aço inox. A seção superior continha anéis de vidro de 9,0 mm de diâmetro e 11mm de altura e a seção inferior anéis de aço inox de 5,0 mm de diâmetro. O isolamento térmico da coluna foi feito com uma calha de espuma de poliestireno. O topo da coluna foi fechado com rolha de borracha na qual foi adaptada uma serpentina em aço inox com diâmetro do tubo de 5,0 mm, com 5 voltas e diâmetro da espira igual a 60 mm. Um condensador de vidro de 200 mm de altura (condensador 1) foi colocado externamente sobre a rolha. Esse condensador e a serpentina interna de aço inox, mantinham a razão de refluxo da coluna e eram resfriados com água em temperatura ambiente.

Como caldeira foi utilizado um balão de vidro de fundo redondo, com três bocas esmerilhadas e capacidade de 5 litros que foi acoplado à coluna através da boca central. O isolamento térmico foi feito com manta de fibra de vidro.

Um tubo de aço inox foi adaptado à caldeira para a tomada de amostra do produto que era feita com o auxílio de bomba peristáltica PD 5002 Heidolph.

As amostras, de aproximadamente 60 mL, eram coletadas em frasco de vidro graduado de 100 mL resfriado com solução alcoólica a -10°C .

O destilado era coletado em frasco de vidro graduado de 500 mL, adaptado à saída de um condensador de vidro com serpentina interna (condensador 2) de 600 mm de altura e 60mm de diâmetro. Esse condensador era resfriado com solução alcoólica mantida a -10°C e que circulava pelo sistema com auxílio de bomba.

Uma bomba de vácuo de palhetas Labortechnik foi conectada ao condensador 2 através de tubulação de plástico para manter o equipamento sob vácuo.

O aquecimento era feito com o auxílio de manta elétrica Fisaton 652. Um ensaio de destilação de água foi feito para a determinação da carga térmica fornecida pela manta em cada um dos pontos da escala de seu controlador. Uma curva com 5 pontos (vazão de destilado em $\text{g}\cdot\text{s}^{-1}$) foi feita e a carga térmica foi calculada usando-se a entalpia de vaporização para as condições do processo.

O monitoramento da temperatura era feito com termômetros de mercúrio e o vácuo com o auxílio de um manômetro em U. As medidas eram feitas no topo e no fundo da coluna. Uma válvula de agulha era usada para a “quebra do vácuo”. A vazão da água de resfriamento era medida manualmente em um ponto no final da

linha de resfriamento. Essa vazão era controlada manualmente por uma válvula colocada na linha de abastecimento de água do laboratório. A temperatura de saída da água de resfriamento era medida manualmente, com termômetro de mercúrio, em um ponto na linha de saída do condensador 1.

3.2.5.1 Desalcoolização de soluções hidroalcoólicas

A otimização da operação de desalcoolização em colunas de destilação industriais pode ser feita com segurança e versatilidade empregando-se simuladores de processo. No presente trabalho foi empregado um simulador de coluna de destilação descontínua denominado UNIBAT pôr ser comercialmente aberto. No entanto, uma coluna real apresenta desvios inerentes ao fato da operação não ser conduzida exatamente em equilíbrio e a hidrodinâmica da coluna apresentar desvios com canais preferenciais e escoamento pelas paredes. O conjunto de informações que torna viável a simulação real da operação é denominado de eficiência da coluna. Para tornar possível o emprego do simulador UNIBAT determinou-se a eficiência de uma coluna em escala piloto.

O programa UNIBAT foi desenvolvido por Luz Jr (1993) para representar a destilação multicomponente descontínua. Foram empregados um modelo detalhado para os balanços de massa e de energia e modelos rigorosos para o cálculo do equilíbrio de fase líquido-vapor presentes na coluna. O programa não é um pacote fechado, o que facilita a simulação de qualquer condição operacional empregada em uma coluna piloto ou industrial. Foram utilizados dois experimentos para comprovar a representatividade do programa UNIBAT.

No experimento 1 foi efetuada a destilação de solução etanol-água. Nesse experimento foram utilizados 3 litros de solução aquosa de etanol de concentração igual a $52,5 \text{ g.L}^{-1}$.

No experimento 2 foi efetuada a destilação de uma solução álcoois – água. Nesse experimento foram utilizados 3 litros de solução aquosa cuja composição era: Etanol- $61,1 \text{ g.L}^{-1}$; Metanol- $0,20 \text{ g.L}^{-1}$; Propanol 1- $0,024 \text{ g.L}^{-1}$; Metil 2 – propanol 1- $0,07 \text{ g.L}^{-1}$.

As condições do processo de destilação descontínua na coluna piloto foram: carga térmica inicial de $51\ 718\ 39 \text{ J.h}^{-1}$ e a coluna mantida em refluxo total por 15

escolhido como ponto mínimo de carga térmica, sendo variado de acordo com o planejamento estatístico. Foi adotado 5 como valor máximo para a razão de refluxo já que o fornecimento de maior refluxo vai aumentando o diâmetro da coluna (supondo-se que foi estabelecida uma velocidade de vapor ótima, técnica e econômica), quando houver maior fluxo de vapor. Também aumenta, junto com a razão de refluxo, o tamanho do condensador e da caldeira.

O número máximo de estágios foi definido como 20 visando uma maior pureza dos aromas presentes na bebida.

As simulações eram interrompidas quando se atingia a concentração de etanol especificada para o produto final (0,5%) e que corresponde à concentração das bebidas fermentadas classificadas como sem álcool.

3.2.5.2 Desalcoolização da sidra escolhida como produto final

Dois ensaios de destilação foram feitos (Destilação 1 e Destilação 2) para desalcoolização da sidra obtida nas condições do ensaio de fermentação 5 (cepa *Saccharomyces cerevisiae* CK, fermentação em temperatura entre 23-26 °C). As condições dos ensaios estão apresentadas na Tabela 8.

TABELA 8 - Condições dos ensaios de destilação para desalcoolização da sidra obtida no ensaio de fermentação 5.

Condições	Destilação 1	Destilação 2
Carga térmica (J.h ⁻¹)	1 017 336	670 464
Temperatura de fundo (°C)	42	41
Vácuo (mmHg)	620	621
Razão de refluxo	0,8	1,05
Volume inicial (mL)	3000	3000

A evolução do etanol e dos constituintes do aroma foi acompanhada por cromatografia em fase gasosa em 5 amostras coletadas nos dois processos. As sidras desalcoolizadas foram caracterizadas físico-quimicamente e a obtida nas condições do ensaio de Destilação1, foi utilizada para a análise sensorial.

Nome: _____ Data: _____

Reconhecimento de Odores

Os frascos contêm substâncias odoríferas que se encontram normalmente em casa ou no local de trabalho. Aproxime o frasco de seu nariz, tire a tampa, cheire 3 vezes brevemente e tente identificar o odor. Se não recordar o nome exato da substância, tente relacioná-la com alguma coisa com a qual você associe esse odor.

REFERÊNCIA	DEFINIÇÃO DO ODOR
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

FIGURA 8 - Modelo da ficha utilizada na prova de reconhecimento de odores

Os candidatos que não conseguiram identificar pelo menos uma das soluções referentes a cada gosto básico foram excluídos. O modelo da ficha utilizada para o teste de reconhecimento de gostos básicos está demonstrado na FIGURA 9.

Nome: _____ Data: _____

Reconhecimento de Gostos básicos

Prove, da esquerda para a direita, cada uma das soluções. As soluções podem ter gosto doce, ácido, salgado ou amargo. Entre as soluções com gostos básicos pode haver uma ou mais amostras que tem apenas água e ainda ter repetições dos gostos básicos. Identifique o gosto da solução de cada um dos copinhos codificados. Enxaguar a boca com água antes de degustar e também entre uma amostra e outra.

AMOSTRA	IDENTIFICAÇÃO DO GOSTO
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

FIGURA 9 - Modelo da ficha utilizada na prova de reconhecimento de gostos básicos.

3.2.6.2 Desenvolvimento da terminologia descritiva para análise sensorial

Para a determinação dos descritores, as amostras foram apresentadas de forma pareada aos julgadores, em cabines individuais, juntamente com a ficha própria (FIGURA 10). Solicitou-se que fossem listadas as diferenças e similaridades entre elas com relação à aparência, aroma e sabor.

Conduziu-se uma discussão com a equipe para agrupar os termos descritivos mais utilizados. Para facilitar o consenso entre os julgadores, foi feita a definição de cada um dos termos que fariam parte da ficha da avaliação sensorial das sidras (Stone; Sidel, 1985).

Nome: _____ Data: _____	
Por favor, compare as duas amostras de sidras quanto à aparência, aroma e sabor e descreva em que elas são similares e em que são diferentes.	
Amostras: _____ e _____	
Similaridades	Diferenças
Aparência: _____	_____
Aroma: _____	_____
Sabor: _____	_____

FIGURA 10 - Modelo da ficha utilizada para determinação dos descritores para o método descritivo.

3.2.6.3 Treinamento e seleção da equipe sensorial para o teste descritivo

Para quantificar cada atributo sensorial, utilizou-se uma escala não estruturada bipolar de 9cm. Para avaliar o desempenho de cada julgador, foi realizada a ADQ em três sessões com a apresentação em cada uma delas, de duas amostras de sidras varietais produzidas no Centro de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa. As amostras foram apresentadas simultaneamente, acompanhadas da ficha de avaliação (FIGURA 11). Os julgadores receberam 40 mL de cada amostra, com temperatura ao redor de 16 °C, como sugerido por Amerine e Roessler (1983), em copos plásticos brancos de 50 mL, codificados com três dígitos, sendo que a ordem de apresentação das amostras foi aleatória. Os atributos sensoriais foram avaliados sob luz branca, em cabinas individuais.

Nome: _____ Data: _____

Por favor, em cada amostra, avalie a intensidade de cada um dos atributos utilizando a escala correspondente.

Amostra

Aparência

	-----	-----
Cor Amarela	Pouco	Muito

Aroma

	-----	-----
Alcoólico	Pouco	Muito
	-----	-----
Nota Frutal	Pouco	Muito
	-----	-----
Fermentado	Pouco	Muito
	-----	-----
Cozido	Pouco	Muito

Gosto

	-----	-----
Doce	Pouco	Muito
	-----	-----
Ácido	Pouco	Muito
	-----	-----
Amargo	Pouco	Muito

FIGURA 11 - Modelo da ficha de avaliação para a avaliação do desempenho dos julgadores.

A habilidade de cada julgador em discriminar as amostras bem como a repetibilidade foi avaliada através da análise de variância (ANOVA) com dois fatores (amostras e repetição), para cada um dos atributos e a Análise de Componentes principais utilizando-se o programa SAS for Windows (SAS 1989).

Os julgadores selecionados para compor a equipe para o método descritivo devem apresentar média consensual na equipe, poder discriminativo e repetibilidade (p para F amostra $\geq 0,50$ e p para F repetições $> 0,05$, respectivamente) (Stone *et al.*, 1974).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização do mosto de maçãs

No Brasil não existe produção industrial de sidra varietal. A matéria prima, descarte das maçãs de mesa, é diversificada e processada nas indústrias conforme a disponibilidade das cultivares durante a safra. O produto fermentado base é padronizado de acordo com as características desejadas pelas empresas e comercializado com o nome de sidra.

Para padronizar o fermentado do estudo optou-se por fermentações de mosto varietal em escala de laboratório, apesar das particularidades desses processos em comparação com os industriais.

Na Tabela 9 estão demonstradas as características físico-químicas do suco de maçãs industriais da cultivar Belgolden, obtido em laboratório e que foi utilizado como mosto para todos os experimentos de fermentação. As maçãs apresentam o ácido málico como predominante por determinação gênica e os demais ácidos orgânicos não chegam a atingir o valor correspondente a 5% do total (Czelusniak *et al.*, 2002). O valor médio encontrado no mosto para o ácido málico ($0,32 \text{ g} \cdot 100\text{mL}^{-1}$) encontra-se abaixo de $0,45 \text{ g} \cdot 100\text{mL}^{-1}$, preconizado na literatura como limite entre maçãs doces e ácidas (Schobinger *et al.*, 1986 e Lea, 1995).

O suco apresentou concentração de fenóis totais ($410 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) superior a faixa de 180-200 ppm que segundo Schobinger *et al.* (1986) e Lea (1995) diferencia as cultivares consideradas amargas das doces.

Esses dois atributos caracterizaram o mosto em estudo como proveniente de cultivar doce-amarga. Os polifenóis da maçã são importantes na qualidade final das sidras e contribuem para a formação do “corpo da bebida” (Drilleau, 1993).

Os açúcares são importantes como fonte de carbono para o processo fermentativo. A concentração de açúcares totais determinada indicou a possibilidade da obtenção de fermentado com graduação alcoólica superior a $4 \text{ }^{\circ}\text{GL}$, limite mínimo estabelecido pela legislação brasileira para as sidras (Brasil, 1974).

O teor de nitrogênio pode variar em uma mesma cultivar no mesmo ano em diferentes pomares. Em um mesmo pomar, o teor de uma mesma cultivar varia segundo as safras. O mosto apresentou concentração de nitrogênio total de 100 mg.L⁻¹ que está de acordo com os valores determinados por Nogueira (2003) que foram de 100 a 300 mg.L⁻¹ para variedades produzidas no Estado do Paraná e de 90 a 200 mg.L⁻¹ para variedades produzidas no Estado do Rio Grande do Sul. A concentração de nitrogênio amoniacal encontrada foi 2,36 mg.L⁻¹. Nota-se que é um valor baixo quando comparado aos valores relatados na literatura para mostos de uva que apresentam teores da ordem de 44mg.L⁻¹ (Pires, 1993). Porém, a proporção em relação ao teor de nitrogênio total é semelhante no mosto de maçãs e no mosto de uvas.

TABELA 9 - Características físico-químicas do mosto da maçã industrial da cultivar Belgolden.

Características	Quantidade
Brix	13,0
pH	3,50
¹ Acidez total, g.L ⁻¹	3,21
Frutose, g.L ⁻¹	68,20
Sacarose, g.L ⁻¹	34,80
Glicose, g.L ⁻¹	19,80
² Fenóis totais, mg.L ⁻¹	410,0
Nitrogênio total, mg.L ⁻¹	100,0
Nitrogênio amoniacal mg.L ⁻¹	2,36
Cinzas, g.L ⁻¹	1,0
Fósforo mg.L ⁻¹	550,0
Cálcio mg.L ⁻¹	28,0
Magnésio mg.L ⁻¹	20,30
Potássio, mg.L ⁻¹	0,10

¹ expresso com ácido málico. ² expresso como catequina.

4.1.1 Processo fermentativo

As fermentações em escala de laboratório foram feitas para a obtenção da sidra a ser utilizada no processo de desalcoolização. Foram testadas diferentes cepas comerciais de leveduras utilizadas para a produção de vinhos, bem como o efeito da temperatura e da suplementação nutricional do mosto.

Segundo Mafart (1989), as diferenças nas características físico-químicas e sensoriais das bebidas fermentadas obtidas com cepas de levedura de diferentes

espécies são mais importantes do que aquelas obtidas entre uma cepa e outra dentro da mesma espécie. Apesar da importância da cepa de levedura no processo fermentativo, ela é apenas um dos fatores determinantes do aroma das bebidas fermentadas. Outros fatores físico-químicos como a natureza e composição do mosto de origem e a temperatura de fermentação influenciam o processo.

4.1.2 Fermentação com *Saccharomyces cerevisiae* var. *uvarum* – Fermol crioaromae

Foram feitas fermentações do mosto de maçãs com uma cepa comercial criotolerante *Saccharomyces cerevisiae uvarum* utilizada industrialmente para a produção de vinhos, pois, segundo Castellari *et al.* (1994) citado por Lepe (1997), essas cepas de *Saccharomyces cerevisiae uvarum* tem sido utilizadas para a melhoria da composição química desses produtos.

A composição do aroma das sidras obtidas de mostos com adição de ativadores de fermentação comerciais Enovit e Fermoplus foi avaliada e os resultados são mostrados a seguir.

As fermentações do mosto sem a adição de ativadores de fermentação (ensaio testemunha) e com adição de ativadores de fermentação Enovit (ensaio 1) e Fermoplus (ensaio 2) foram feitas em temperatura entre 8-10 °C. Optou-se por “fermentações frias” porque, segundo Llauradó *et al.* (2002), baixas temperaturas (10-15 °C) podem ser usadas em fermentação alcoólica para aumentar a produção e retenção dos constituintes do aroma e quando essas fermentações são conduzidas por leveduras adaptadas ao frio, resultam em processos muito regulares e em vinhos finos e aromáticos. Nos produtos de fermentação rápida, a presença de aroma “de fermento” mascara ou substitui o aroma “frutado” considerado como favorável à qualidade do produto. Esse aroma indesejável (de fermento), diminui na fase de maturação, mas se for significativo na fermentação, permanecerá no produto final (Lequéré, 1991). A adição de compostos nitrogenados tem influência sobre o metabolismo e a multiplicação das leveduras bem como sobre a cinética e a formação dos produtos secundários de fermentação (Rosier, 1992).

A concentração de nitrogênio amoniacal do mosto (ensaio testemunha) era de 2,36 mg.L⁻¹. Após a adição de Enovit (ensaio 1) e de Fermoplus (ensaio 2), a

concentração passou para 45,64 mg.L⁻¹ e 29,12 mg.L⁻¹, respectivamente. Os experimentos foram interrompidos após 100 dias de fermentação. A concentração de nitrogênio amoniacal no ensaio testemunha foi reduzida em 75% nos primeiros 20 dias de fermentação havendo estabilização após esse período. Nos ensaios 1 e 2, a redução nos primeiros 55 dias de processo, foi de 32% e de 16%, respectivamente, estabilizando nesses níveis.

As concentrações de etanol nas sidras obtidas com a cepa criotolerante *Saccharomyces cerevisiae uvarum* - Fermol crioaromae sem a adição de ativadores de fermentação (ensaio testemunha) e com adição dos ativadores Enovit (ensaio 1) e Fermoplus (ensaio 2) encontram-se na Tabela 10 e estão de acordo com o valor mínimo preconizado pela legislação brasileira que é de 4 °GL (Brasil,1974).

O rendimento da fermentação foi de 69,7%, 76,0% e de 63,7% em relação ao rendimento teórico nos ensaios 1, 2 e testemunha, respectivamente. A concentração de etanol na sidra testemunha foi menor do que as concentrações dos ensaios com suplementação nutricional ao final de 100 dias de fermentação. Segundo Harrison e Graham (1970), em meios com pouco nitrogênio ocorrem fermentações mais lentas e outros autores demonstraram que o tempo para a degradação dos açúcares pode ser reduzido pela adição de nitrogênio (Agenbach, 1977; Monk 1982, Monk; Costello, 1984).

A maior concentração de etanol do ensaio de fermentação 2 pode estar relacionada com a presença de caseinato de potássio na composição do ativador Fermoplus, que cede aminoácidos ao meio. A presença de nitrogênio na forma de aminoácidos no meio de fermentação, aumenta a conversão de açúcar em etanol porque a levedura não necessita desviar carbono para a síntese desses compostos (Harrison; Graham,1970).

TABELA 10 - Concentração de etanol em g. L⁻¹ nas sidras obtidas com a cepa *Saccharomyces cerevisiae uvarum* - Fermol crioaromae.

Composto (g.L ⁻¹)	Ensaio		
	1	2	Testemunha
Etanol	43,77	47,74	39,95

Ensaio 1- Adição de Enovit, temperatura 8-10 °C
Ensaio 2- Adição de Fermoplus, temperatura 8-10 °C
Ensaio testemunha - Temperatura 8-10 °C

Os constituintes do aroma, assim como a totalidade dos produtos secundários de fermentação, dependem das características físico-químicas dos mostos, das características fisiológicas peculiares dos microrganismos e das condições do processo.

Foram analisados os principais constituintes voláteis das sidras, principalmente os de origem fermentativa. As concentrações de etanal, metanol e álcoois superiores (propanol-1, metil-2 propanol-1, álcoois isoamílicos, fenil-2 etanol e hexanol) são apresentados na Tabela 11.

A concentração de etanal no ensaio testemunha foi superior à dos ensaios 1 e 2, enquanto que a concentração de etanol foi inferior. O etanal é originário do processo fermentativo e é um intermediário na produção de etanol a partir de açúcares. Seu acúmulo está relacionado com a fermentação gliceropirúvica e também é possível que a oxidação química do etanol possa aumentar seu teor (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

O metanol resulta da hidrólise das pectinas e está relacionado com o tipo de mosto e à tecnologia de vinificação. O mosto utilizado no estudo foi tratado com a enzima Pectinex 100L (Novo Enzymes). Essa enzima apresenta alta atividade pectinolítica e contém pectinatranseliminase, poligalacturonase, pectinesterase, hemicelulases e celulasas. O teor de metanol das sidras nos 3 ensaios foi da ordem de 90 mg.L⁻¹.

Muitos trabalhos de pesquisa tratam da influência da adição de nitrogênio aos mostos sobre a formação dos álcoois superiores, porém os resultados são contraditórios. Margheri *et al.* (1984) constataram que a concentração dos álcoois superiores não variou com a adição de nitrogênio aos vinhos, com exceção do metil-2-propanol-1, cujo teor diminuiu. Para alguns autores (Ough *et al.*, 1968; Ough; Bell, 1980; Cantagrel *et al.*, 1982; Salmon, 1985) os álcoois isoamílicos apresentaram correlação negativa com a soma dos aminoácidos livres do mosto. Ribéreau-Gayon *et al.* (1998) afirmaram que as carências do mosto em nitrogênio amoniacal e em aminoácidos, leva a maior formação de álcoois superiores e que nessas condições a levedura recupera por transaminação todos os aminoácidos disponíveis e abandona os esqueletos de carbono inutilizados sob a forma de álcoois superiores. A concentração total dos álcoois superiores foi maior no ensaio testemunha. Esse fato pode estar relacionado com a menor concentração de

nitrogênio amoniacal nesse ensaio apesar da concentração em aminoácidos não ter sido determinada.

A concentração do 2-fenil etanol foi maior no ensaio testemunha. Esse álcool contribui significativamente para o aroma das sidras, conferindo aroma perfumado à bebida (Dürr, 1986). O efeito esperado da vitamina B1 presente nos ativadores, que seria, segundo os fabricantes, de inibir parcialmente a produção de álcoois superiores (que em grandes concentrações conferem desarmonia ao produto) e de favorecer a produção de 2-fenil etanol (que apresenta aroma de rosas) não foi confirmado quando da interrupção dos experimentos.

TABELA 11 - Concentrações em mg. L⁻¹ de etanal, metanol, 2-fenil etanol e álcoois superiores nas sidras obtidas com a cepa *Saccharomyces cerevisiae uvarum* - Fermol crioaromae.

Compostos (mg.L ⁻¹)	Ensaio		
	1	2	Testemunha
Álcoois Isoamílicos*	91,17	90,01	97,75
Etanal	44,20	47,70	127,73
2-Fenil etanol*	1,06	0,66	1,65
Hexanol*	ND	ND	ND
Metanol	90,46	91,79	92,92
Metil-2 propanol-1*	10,26	12,16	13,43
Propanol-1*	22,38	24,39	15,92
Somatório álcoois superiores*	124,87	127,22	128,75

ND - não detectado

Ensaio 1- Adição de Enovit, temperatura 8-10 °C

Ensaio 2- Adição de Fermoplus, temperatura 8-10 °C

Ensaio testemunha - Temperatura 8-10 °C

Os ésteres são formados enzimaticamente durante a fermentação e com exceção do acetato de etila, apresentam odor “frutado e floral” (Williams, 1974b). A temperatura de fermentação e a espécie de levedura influenciam a formação desses compostos (Daudt; Ough, 1973). As concentrações de acetato de etila, lactato de etila, succinato de dietila, dos ésteres de ácidos graxos e dos acetatos de álcoois superiores identificados nas sidras estão mencionadas na Tabela 12.

Dentre os ésteres, o acetato de etila foi o mais abundante nas sidras do estudo e mostrou-se similar ao que, segundo Ribéreau-Gayon (1973), ocorre nos vinhos. Quando sua concentração ultrapassa 200 mg.L⁻¹ confere odor picante, entretanto, em concentrações inferiores, seu odor é mascarado pelos outros odores e sua presença é benéfica ao aroma dos vinhos. Margheri *et al.* (1986) constataram

não haver diferenças significativas nos teores de ésteres etílicos nos vinhos provenientes de mostos que tinham concentrações diferentes de nitrogênio. Os teores de acetatos nas sidras em estudo foram menores no ensaio testemunha, contrário ao observado por Margheri et al. (1984) em vinhos de mostos menos ricos em nitrogênio. A concentração total de ésteres etílicos foi superior no mosto tratado com o ativador Fermoplus e parece concordar com o que foi observado em vinho Malvasia obtido de mosto tratado com esse ativador e que apresentou resultado similar (Pascal Biotech,1999).

TABELA 12 - Concentrações de ésteres nas sidras obtidas com a cepa *Saccharomyces cerevisiae uvarum* - Fermol crioaromae.

Composto (mg.L ⁻¹)	Ensaio		
	1	2	Testemunha
Acetato de etila	102,85	116,19	97,77
Acetato de fenila	ND	ND	ND
Acetato de hexila	ND	ND	ND
Acetato de isoamila	0,16	0,20	0,13
Butirato de etila	3,97	4,00	3,73
Decanoato de etila	ND	ND	ND
Dodecanoato de etila	ND	ND	ND
Hexanoato de etila	0,79	0,57	0,87
Lactato de etila	6,31	5,58	5,33
Octanoato de etila	ND	ND	ND
Succinato de dietila	ND	ND	ND
Somatório ésteres	114,08	126,54	107,83

ND – não detectado

Ensaio 1- Adição de Enovit, temperatura 8-10 °C

Ensaio 2- Adição de Fermoplus, temperatura 8-10 °C

Ensaio testemunha - Temperatura 8-10 °C

Os ácidos graxos voláteis têm efeito negativo sobre a qualidade dos vinhos, apesar dos baixos teores. Os ácidos butírico, isobutírico e isovalérico têm odores fortes, acres e persistentes, lembrando queijo deteriorado. Os ácidos graxos livres, octanóico, decanóico e dodecanóico têm igualmente odores desagradáveis, acres e que lembram sabão, mas este fato parece não ter influenciado negativamente a qualidade das sidras estudadas.

As concentrações dos ácidos graxos voláteis (isobutírico, butírico e isovalérico) e dos ácidos graxos livres (hexanóico e octanóico), são apresentadas na Tabela 13.

A concentração total dos ácidos graxos foi maior no ensaio testemunha em função principalmente do teor elevado de ácido octanóico. Esse resultado está de acordo com Bertrand (1981), que constatou que os ácidos octanóico e decanóico diminuem significativamente nos vinhos quando há adição de sais de amônio aos mostos.

TABELA 13 - Concentrações de ácidos graxos voláteis nas sidras obtidas com a cepa *Saccharomyces cerevisiae uvarum* - Fermol crioaromae.

Composto (mg.L ⁻¹)	Ensaio		
	1	2	Testemunha
Ácido butírico	ND	ND	ND
Ácido hexanóico	1,11	1,35	5,35
Ácido isobutírico	1,79	0,78	2,77
Ácido isovalérico	0,53	0,58	1,01
Ácido octanóico	3,88	4,67	15,94
Somatório ácidos	7,31	7,38	25,07

ND - não detectado

Ensaio 1- Adição de Enovit, temperatura 8-10 °C

Ensaio 2- Adição de Fermoplus, temperatura 8-10 °C

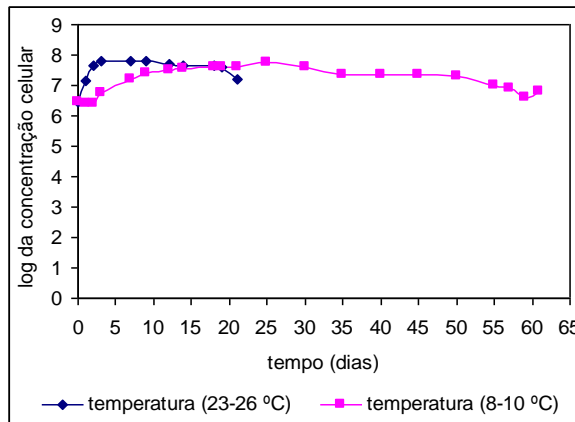
Ensaio testemunha - Temperatura 8-10 °C

4.1.3 Fermentação com cepas *Saccharomyces cerevisiae* ICV D47 e *Saccharomyces cerevisiae* CK.

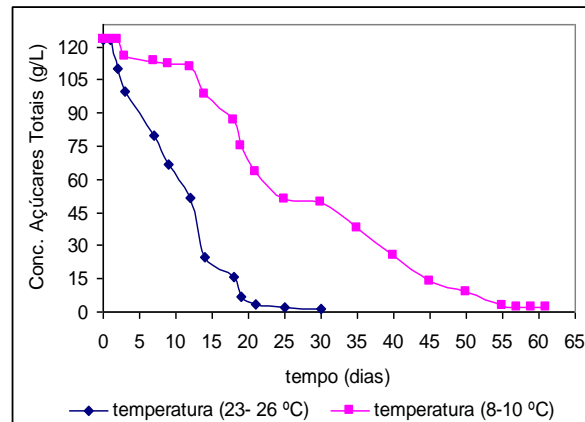
As fermentações com as duas cepas foram conduzidas em temperatura entre 23-26 °C (ensaio 3 e 5) e em temperatura entre 8-10 °C (ensaio 4 e 6) . A fermentação em temperatura ambiente é uma prática comum nas sidrarias brasileiras, porém buscou-se avaliar a influência da diminuição da temperatura de fermentação no processo bem como na composição do aroma das sidras.

A FIGURA 12 mostra as curvas da evolução da concentração celular e de consumo de açúcares durante a fermentação de mosto de maçãs com *Sacchromyces cerevisiae* ICV D47 e a FIGURA 13 mostra as mesmas curvas obtidas durante a fermentação com *Sacchromyces cerevisiae* CK.

O perfil das curvas de crescimento demonstra a influência da temperatura na cinética da fermentação das duas cepas. Houve diminuição do tempo de latência e aumento na taxa de consumo de açúcares com o aumento da temperatura (8-10 °C para 23-26 °C). Nas fermentações em baixa temperatura (8-10 °C), o início do processo foi retardado em 72 horas devido à fase de adaptação das leveduras.



(FIGURA 12a)



(FIGURA 12b)

FIGURA 12 - Evolução da concentração celular (FIGURA 12a) e de açúcares totais (FIGURA 12b), durante a fermentação de mosto de maçãs com *Saccharomyces cerevisiae* ICV D47 em diferentes temperaturas.

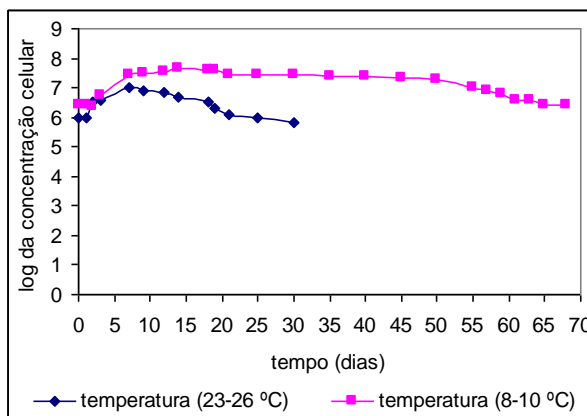


FIGURA 13a

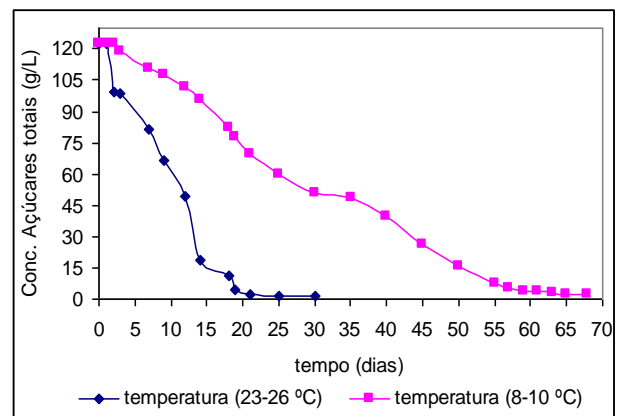


FIGURA 13b

FIGURA 13 - Evolução da concentração celular (FIGURA 13a) e de açúcares totais (FIGURA 13b), durante a fermentação de mosto de maçãs com *Saccharomyces cerevisiae* CK em diferentes temperaturas

As fermentações foram regulares e o tempo total de fermentação diminuiu com o aumento da temperatura, nos dois casos (Tabela 14).

TABELA 14 - Efeito da temperatura sobre o tempo de fermentação.

Ensaio	3	4	5	6
Tempo para o início da fermentação (h)	24	72	24	72
Tempo de fermentação (dias)	31	61	31	68

Ensaio 3- Cepa ICV D-47, temperatura 23-26 °C.

Ensaio 4- Cepa ICV D-47, temperatura 8-10 °C.

Ensaio 5- CepaCK, temperatura 23-26 °C.

Ensaio 6- CepaCK, temperatura 8-10 °C.

Houve pequena variação na concentração celular nos três primeiros dias, nas fermentações realizadas em temperaturas entre 8-10 °C (experimentos 4 e 6) indicando a fase lag. A concentração celular máxima ocorreu no 25º dia para cepa D47. Apesar da concentração inicial do inóculo da cepa CK ter sido inferior, a taxa de crescimento foi maior do que a verificada para cepa D47.

Nas fermentações em temperatura entre 23-26 °C não foi observado aumento na fase de latência. Apesar da incidência de vários fatores sobre a velocidade de fermentação, de uma maneira geral para temperaturas entre 15 e 35 °C, a fase de latência será tão mais curta e a fermentação tão mais rápida quanto mais elevada for a temperatura. Esse fato confirma o encontrado na bibliografia, que ensina que tudo isso é dependente da espécie e da cepa de levedura envolvida no processo, da composição do mosto, da aeração e do etanol que vai sendo formado (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

As concentrações de etanol nas sidras obtidas com as cepas *Saccharomyces cerevisiae* ICV D47 e *Saccharomyces cerevisiae* CK em temperatura de 23-26 °C (ensaios 3 e 5) e em temperatura de 8-10 °C (ensaios 4 e 6), estão mostradas na Tabela 15.

TABELA 15 - Concentrações de etanol nas sidras obtidas com as cepas *Saccharomyces cerevisiae* ICV D47 e *Saccharomyces cerevisiae* CK.

Composto (g.L ⁻¹)	Ensaio			
	3	4	5	6
Etanol	60,6	60,3	60,8	60,1

A concentração de etanol foi similar nos quatro ensaios e está de acordo com os padrões determinados para as sidras (4-8 °GL) pela legislação brasileira (Brasil,1974).

Produtos secundários da fermentação, os álcoois superiores podem ser detectados no meio ao mesmo tempo em que o etanol e pode-se dizer que sua concentração reflete diretamente a diminuição do teor de açúcares do mosto (Williams, 1974a).

As concentrações dos álcoois superiores (propanol-1, metil-2 propanol-1, álcoois isoamílicos, fenil-2 etanol e hexanol), de etanal e metanol identificadas nos fermentados estão mostradas na Tabela 16.

Os teores determinados de etanal de 64,73; 115,86; 69,64 e 114,1 mg.L⁻¹ para os ensaios 3, 4, 5 e 6, respectivamente, estão abaixo do limite de percepção desse composto que é de 100-125 mg.L⁻¹ (Margalith; Schwartz,1970). Concentrações elevadas caracterizam uma alteração chamada “flor”, causada por leveduras *Candida vini* que se desenvolvem na superfície (daí o nome flor) fazendo com que o vinho apresente odor marcante de acetaldeído.

Segundo Willians (1974b), os fatores que favorecem a atividade fermentativa também favorecem a formação dos álcoois superiores que depende qualitativa e quantitativamente das cepas de leveduras e das condições de fermentação como variedade das maçãs, tratamentos do mosto, pH e temperatura. O presente trabalho confirmou os estudos do autor, pois o aumento da temperatura de fermentação resultou em um aumento na concentração total dos álcoois superiores identificados nas sidras obtidas com as cepas estudadas. Llauradó *et al.* (2002) obtiveram o mesmo efeito em vinhos fermentados em baixas temperaturas. Esse aumento foi de duas vezes para a cepa CK e de uma vez para a cepa ICV D47. Mallouchos *et al.* (2003) observaram esse mesmo efeito na fermentação de mostos de uva. O aumento da concentração dos álcoois isoamílicos e do propanol-1 com o aumento da temperatura foi observado por Leguerinel *et al.* (1988) nas sidras e por Rankine (1967) nos vinhos.

De acordo com Mafart (1989), a quantidade de álcoois superiores formada nas sidras atingem um máximo entre 15 e 25 °C e diminui fora dessa faixa. Dentro da amplitude de temperaturas empregadas nas cervejarias, a quantidade de álcoois superiores usualmente aumenta com a elevação da temperatura embora haja diferenças quando se trabalha em escala piloto ou industrial (Mafart,1989).

A proporção dos álcoois superiores formados foi diferente nas sidras obtidas com as diferentes cepas. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Webb e Kepner (1961) citados por Mafart (1986) que demonstraram que diferentes cepas de leveduras causam variações nas proporções de álcoois superiores formados. De acordo com Ribéreau-Gayon *et al.* (1998), a natureza das leveduras (cepa, espécie) intervem na fermentação e afeta a produção dos álcoois superiores.

De uma forma geral, uma produção limitada de álcoois superiores, com exceção do 2-fenil etanol, é um dos critérios de seleção das leveduras de vinificação. O 2-fenil etanol e seus ésteres contribuem significativamente para o aroma das sidras, conferindo aroma perfumado à bebida (Dürr, 1986). A maior concentração

deste composto foi obtida nas condições do ensaio 5 e está de acordo com as quantidades obtidas pelo autor.

TABELA 16 - Concentrações em mg.L⁻¹ de etanal, metanol e álcoois superiores nas sidras obtidas com as cepas *Saccharomyces cerevisiae* ICV D47 e *Saccharomyces cerevisiae* CK.

Compostos (mg.L ⁻¹)	Ensaio			
	3	4	5	6
Álcoois Isoamílicos*	135,16	128,1	144,01	100,22
Etanal	64,73	115,86	69,64	114,1
Fenil-2 etanol*	37,89	17,70	40,18	17,33
Hexanol*	4,26	4,84	3,64	4,26
Metanol	96,23	93,24	91,91	95,56
Metil-2 propanol-1*	10,05	6,84	10,82	4,38
Propanol-1*	ND	0,56	ND	3,73
Somatório álcoois superiores*	187,36	158,04	198,65	129,92

ND – não detectado.

Ensaio 3- Cepa ICV D-47, temperatura 23-26 °C.

Ensaio 4- Cepa ICV D-47, temperatura 8-10 °C.

Ensaio 5- CepaCK, temperatura 23-26 °C.

Ensaio 6- CepaCK, temperatura 8-10 °C.

As concentrações de acetato de etila, lactato de etila, succinato de dietila, dos ésteres de ácidos graxos e dos acetatos de álcoois superiores identificados nas sidras estão mostradas na Tabela 17.

Houve diferença na quantidade total de ésteres produzidos com as leveduras estudadas, mas as quantidades produzidas de cada um não foram afetadas da mesma forma. Os ésteres identificados nas sidras em estudo são os geralmente encontrados em outras bebidas fermentadas confirmando o preconizado por Willians *et al.* (1978), de que a composição em ésteres é geralmente similar em todas as bebidas alcoólicas, ainda que a formação destes compostos seja influenciada pela temperatura, proporção e tipo de inóculo.

Os ésteres etílicos predominaram em razão da abundância do etanol no mosto. Dentre os ésteres de ácidos graxos, os de baixo peso molecular representam uma importante classe de aromas. Os odores de frutas estão geralmente relacionados com acetatos, propionatos e butiratos (Macedo; Pastore, 1997). O butirato de etila foi identificado somente na sidra obtida com a cepa *Saccharomyces cerevisiae* CK em temperatura entre 23-26 °C (ensaio 5).

A presença de ésteres, como o acetato de etila em meios de cultivo tem sua formação admitida como tradutora de um metabolismo de desintoxicação, através do

qual o microrganismo impede o acúmulo de compostos tóxicos, como ácidos graxos de cadeia curta e álcoois superiores. A produção de acetatos acontece como uma forma de desintoxicação do meio através da conversão de ácido acético e de álcoois superiores (Latrasse *et al*,1987).

O acetato de hexila é um dos ésteres característicos do aroma das sidras, sendo descrito como doce, frutado, similar ao de maçãs e pêras (Suomalainen,1981). A concentração desse composto esteve ao redor de 0,40 mg.L⁻¹, nos 4 ensaios, similar à das sidras estrangeiras.

Segundo Ribéreau-Gayon *et al.* (1998), com relação ao aroma dos fermentados, os ésteres etílicos de ácidos graxos são mais interessantes do que os acetatos de álcoois superiores. O hexanoato de etila tem odor “floral” e “frutado” que pode ser relacionado ao aroma de maçã verde. Esse composto apareceu em maior concentração na sidra obtida nas condições do ensaio 5 (cepa *Saccharomyces cerevisiae* CK em temperatura entre 23-26 °C) e o ensaio sensorial foi positivo.

TABELA 17 - Concentrações de ésteres nas sidras obtidas com as cepas *Saccharomyces cerevisiae* ICV D47 e *Saccharomyces cerevisiae* CK.

Ensaio Composto (mg/L)	3	4	5	6
Acetato de etila	16,66	10,43	20,04	16,12
Acetato de fenila	ND	ND	0,05	ND
Acetato de hexila	0,40	0,37	0,43	0,34
Acetato de isoamila	0,69	0,19	0,17	0,36
Butirato de etila	ND	ND	2,05	ND
Decanoato de etila	0,47	0,29	0,30	0,29
Dodecanoato de etila	ND	0,12	0,26	0,12
Hexanoato de etila	0,32	ND	2,85	0,09
Lactato de etila	ND	ND	4,84	ND
Octanoato de etila	0,30	0,06	0,20	0,17
Succinato de dietila	ND	ND	0,17	ND
Somatório ésteres	18,84	11,46	31,36	17,49

ND – não detectado

Ensaio 3- Cepa ICV D-47, temperatura 23-26 °C.

Ensaio 4- Cepa ICV D-47, temperatura 8-10 °C.

Ensaio 5- CepaCK, temperatura 23-26 °C.

Ensaio 6- CepaCK, temperatura 8-10 °C.

O impacto isolado dos ácidos graxos sobre o aroma dos fermentados é pouco intenso nas concentrações determinadas, porém essa classe de compostos como as demais, faz parte do conjunto dos aromas ou do buquê dos fermentados (Mallouchous *et al*, 2003). No presente trabalho a análise olfativa confirmou o que relatam os autores citados acima.

As concentrações dos ácidos graxos voláteis (isobutírico, butírico e isovalérico) e dos ácidos graxos livres (hexanóico e octanóico), estão apresentadas na Tabela 18.

A concentração total desses compostos foi maior no ensaio de fermentação 5 em função principalmente do teor elevado de ácido octanóico. A diminuição da concentração total dos ácidos graxos com a diminuição da temperatura foi análoga nos dois casos e está de acordo com Mallouchos *et al.* (2003), que constataram esse mesmo efeito, estudando a fermentação de vinhos com células livres e imobilizadas.

Segundo Mallouchos *et al.* (2003), um indicador do aroma frutado como característica dominante do buquê dos vinhos pode ser a razão entre as concentrações totais de ésteres e de álcoois superiores. Essa razão aumentou nas sidras obtidas com as duas cepas, mostrando que houve maior produção de ésteres (em relação aos álcoois superiores) com o aumento da temperatura. Essa razão foi maior no ensaio de fermentação 5 indicando que o aroma frutado seria mais intenso nessa sidra. A análise olfativa das sidras confirmou o resultado.

TABELA 18 - Concentrações de ácidos graxos nas sidras obtidas com as cepas *Saccharomyces cerevisiae* ICV D47 e *Saccharomyces cerevisiae* CK.

Composto (mg/L)	Ensaio			
	3	4	5	6
Ácido butírico	0,66	0,47	0,44	0,36
Ácido hexanóico	2,60	1,45	1,93	2,78
Ácido isobutírico	0,78	0,66	1,31	0,89
Ácido isovalérico	0,95	0,36	1,71	1,25
Ácido octanóico	4,12	1,11	9,37	2,45
Somatório ácidos	9,05	4,05	14,76	7,73

ND- não detectado

Ensaio 3- Cepa ICV D-47, temperatura 23-26 °C.

Ensaio 4- Cepa ICV D-47, temperatura 8-10 °C.

Ensaio 5- CepaCK, temperatura 23-26 °C.

Ensaio 6- CepaCK, temperatura 8-10 °C

4.1.4 Justificativas para a escolha do fermentado para a desalcoolização - Relação com a qualidade sensorial e parâmetros industriais do processo.

Consideraram-se fatores como temperatura e tempo fermentação bem como a composição do aroma do fermentado para a escolha da sidra que seria usada no

processo de desalcoolização por destilação descontínua a vácuo. As sidras obtidas de mostos fermentados com a cepa criotolerante *Saccharomyces cerevisiae uvarum*-Fermol crioaromae e tratados com os ativadores de fermentação Enovit- ensaio1 e Fermoplus- ensaio 2, não apresentaram características distintas da sidra testemunha que justificassem seu uso. O processo fermentativo foi lento considerando-se as condições industriais de produção de sidra no Brasil, o mesmo ocorrendo com os ensaios com a cepa *Saccharomyces cerevisiae uvarum* ICV D47 e *Saccharomyces cerevisiae* CK em temperatura entre 8-10 °C (ensaio 4 e ensaio 6, respectivamente). Os custos relativos a esse aumento no tempo de processo bem como aos equipamentos com controle de temperatura necessários a uma “fermentação fria” só se justificariam se a qualidade do produto obtido fosse superior aos produtos obtidos do modo tradicional. A análise do perfil dos aromas por cromatografia em fase gasosa bem como a análise olfativa das sidras auxiliou na escolha da sidra obtida com a cepa *Saccharomyces cerevisiae* CK em temperatura ambiente (ensaio5) como a mais indicada ao processo de desalcoolização.

Na Tabela 19 estão demonstradas as características físico-químicas da sidra obtida nas condições do ensaio 5, e que foi utilizada no experimento de desalcoolização.

TABELA 19 - Características físico-químicas do fermentado de maçã (ensaio de fermentação 5) usado no processo de desalcoolização.

Características	Quantidade
¹ Acidez total	3,91
² Acidez volátil (%)	0,09
Açúcares totais, g.L ⁻¹	1,6
Etanol, g.L ⁻¹	60,8
Fenóis totais como catequina, mg.L ⁻¹	408,6
Nitrogênio amoniacal, mg.L ⁻¹	2,36
PH	3,62

¹ expresso como ácido málico; ² expresso como de ácido acético

4.2 Desalcoolização por destilação descontínua a vácuo em coluna piloto

A otimização da operação de desalcoolização em colunas de destilação industriais pode ser feita com segurança e versatilidade empregando-se simuladores de processo. No presente trabalho optou-se por empregar um simulador de uma coluna de destilação descontínua denominado UNIBAT por ser comercialmente

aberto. No entanto, uma coluna real apresenta desvios inerentes ao fato da operação não ser conduzida exatamente em equilíbrio e a hidrodinâmica da coluna apresentar desvios com canais preferenciais e escoamento pelas paredes. O conjunto de informações que torna viável a simulação real da operação é denominado de eficiência da coluna. Para tornar possível o emprego do simulador UNIBAT determinou-se a eficiência de uma coluna em escala piloto conforme descrito no item 3.2.5.1. Foram utilizados dois experimentos para comprovar a representatividade do programa UNIBAT.

4.2.1 Experimento 1: destilação de solução etanol-água

Neste caso, foram utilizados 3 litros de solução aquosa de etanol a $52,5 \text{ gL}^{-1}$. No experimento 1, o teor alcoólico da solução utilizada foi reduzido por destilação aproximadamente até a metade de seu valor inicial. As concentrações de etanol obtidas nas frações coletadas na caldeira ao longo do tempo de operação e as calculadas pelo UNIBAT para o número de estágios 4, 6, 7 e 8 e retenção de massa total na coluna (acúmulo) igual a 1%, estão demonstradas no Quadro 1 bem como as obtidas para o número de estágios 3, 4, 6 e 8 e retenção de massa total igual a 2% estão demonstradas no Quadro 2.

Comparando-se os valores apresentados verifica-se que o simulador UNIBAT consegue reproduzir a operação real com erros de no máximo 7,5% para a coluna analisada, com o simulador já corrigido para a eficiência da coluna.

Fração molar de etanol na caldeira	Fração molar de etanol na caldeira Simulação com UNIBAT			
	4 estágios	6 estágios	7 estágios	8 estágios
Experimento 1				
0,015952	0,01584	0,01582	0,01582	0,01582
0,014667	0,01423	0,01421	0,01421	0,01422
0,011789	0,01266	0,01266	0,01266	0,01266
0,010303	0,01082	0,01078	0,01078	0,01078

QUADRO 1 - Concentrações de etanol nas frações coletadas na caldeira e as calculadas pelo UNIBAT para o número de estágios 4, 6, 7 e 8 e retenção de massa total na coluna (acúmulo) igual a 1%.

Fração molar de etanol na caldeira	Fração molar de etanol na caldeira Simulação com UNIBAT			
	3 estágios	4 estágios	6 estágios	8 estágios
Experimento 1				
0,015952	0,01582	0,01581	0,01581	0,01583
0,014667	0,01419	0,01419	0,01420	0,01420
0,011789	0,01262	0,01261	0,01262	0,01262
0,010303	0,01075	0,01072	0,01073	0,01075

QUADRO 2 - Concentrações de etanol nas frações coletadas na caldeira e as calculadas pelo UNIBAT para o número o número de estágios 3, 4, 6 e 8 e retenção de massa total igual a 2%

4.2.2 Experimento 2: destilação de solução álcoois – água

Neste segundo experimento foram utilizados 3 litros de solução aquosa, cuja composição era: Etanol- $61,1 \text{ g.L}^{-1}$; Metanol- $0,20 \text{ g.L}^{-1}$; Propanol 1- $0,024 \text{ g.L}^{-1}$; Metil 2 – propanol 1- $0,07 \text{ g.L}^{-1}$. O objetivo era validar o simulador para uma mistura multicomponentes como o é o produto que motiva o presente trabalho (a sidra).

A evolução do etanol na solução contida na caldeira está mostrada na FIGURA 14 que compara as respostas do simulador com aquelas geradas pela coluna.

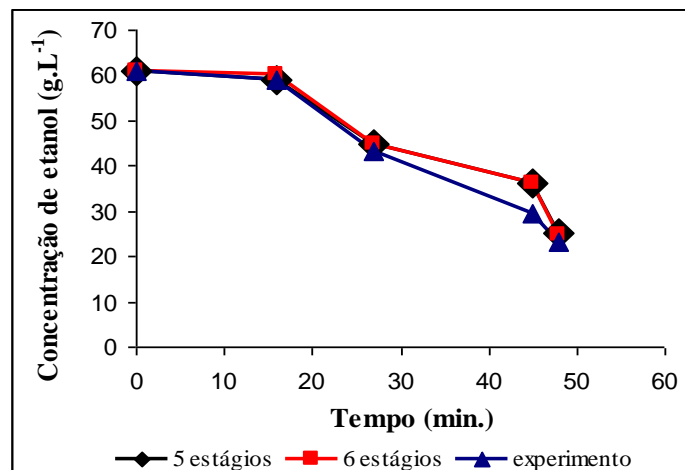


FIGURA 14 - Evolução do etanol em solução durante o experimento 2.

Nota-se ainda na Figura 14 que os valores gerados pelo simulador são consistentes até uma concentração de aproximadamente 42 g.L^{-1} . A partir daí ocorre uma defasagem entre as respostas provavelmente provocada nos valores gerados

pelo modelo termodinâmico empregado pelo simulador para a representação do equilíbrio líquido-vapor. Essa defasagem se recompõe em concentrações mais baixas de álcool mostrando a validade dos modelos empregados

A composição completa da solução obtida ao final do experimento 2 está comparada na Tabela 18 com a obtida através da simulação para o número de estágios 5 e 6 e retenção de massa total na coluna ("holdup") igual a 1%.

A inspeção da Tabela 20 indica um desvio máximo entre os valores preditos pelo simulador e a prática de 1,6% demonstrando a eficiência do programa UNIBAT na reprodução dos resultados do processo experimental.

TABELA 20 – Comparação da composição em fração molar da solução do experimento 2 e da simulação.

Componente	Simulação		Experimento 2
	5 estágios	6 estágios	
Etanol	0,009960	0,009750	0,009910
Metanol	0,000050	0,000050	0,000052
Propanol -1	-	-	Traços ^a
Metil -2- propanol- 1	-	-	Traços ^a

^aFrações molares menores do que 3×10^{-6}

4.2.3 Avaliação da influência da carga térmica, razão de refluxo, e número de estágios no processo de destilação descontínua da solução hidroalcoólica.

Uma matriz de dados foi utilizada para avaliar as principais variáveis que interferem de modo significativo tanto na resposta física de uma coluna de destilação como na economia do processo: razão de refluxo, número de estágios e carga térmica. Antes de proceder à avaliação via matriz de dados, determinou-se a ocorrência de azeótropos entre os componentes da mistura base. A predição de azeótropos foi realizada usando uma rotina desenvolvida por Luz Jr. (2001), e as respostas estão demonstradas na Tabela 21. Observa-se uma grande quantidade de azeótropos de ponto de ebulição de mínima e entre eles dois com ponto de ebulição menor que o do azeótropo etanol-água. O acetato de etila e outros componentes mais pesados podem sair da coluna antes do etanol, devido justamente a presença de azeótropos.

TABELA 21 - Azeótropos binários preditos.

Componente 1	Componente 2	Tipo	T (°C)
Acetato de etila	Etanol	Homogêneo	32,4
Acetato de etila	Água	Heterogêneo	32,1
Etanol	Água	Homogêneo	42,0
Água	2-metil,1-butanol	Heterogêneo	57,0
Água	acetato de hexila	Heterogêneo	58,4
Água	2-fenil-etanol	Heterogêneo	60,0

Os valores que compõem a matriz de dados, gerados pelo simulador UNIBAT para a mistura base, definida na Tabela 22 no item 3.2.5.1 composta por oito componentes (metanol, acetato de etila, etanol, propanol-1, metil-2 – butanol-1, acetato de hexila, 2 fenil – etanol e água), estão demonstrados na Tabela 22.

TABELA 22 - Resultados das simulações dos ensaios da matriz de dados.

Ensaio	Qt (kg.h ⁻¹)	Rr	Ne	Q _{AC} (mol)	E _{AC} (mol)	Q _F (mol)	C _F (mol)
1	250	0,5	4	5865,12	247,49	216313,27	5,19
2	250	0,5	20	4139,17	159,93	218171,98	4,58
3	250	5	4	3905,08	805,70	248484,84	7,21
4	250	5	20	2388,50	375,45	250152,82	5,75
5	500	0,5	4	10078,44	595,08	215216,92	5,38
6	500	0,5	20	8887,44	438,76	216561,61	5,41
7	500	5	4	3633,23	1985,38	241867,93	7,01
8	500	5	20	3120,72	1923,75	242475,08	6,06

Os valores da Tabela 22 para quantidade de produto acumulado (Q_{AC}), quantidade de etanol no acumulado (produto de topo - E_{AC}), quantidade de produto restante no balão de destilação (produto de fundo - Q_F) e a quantidade dos constituintes retidos no produto de fundo com exceção do etanol e da água (C_F) estão calculados para uma operação de destilação em que o ponto de partida é a solução base e o produto de fundo final atinge o teor alcoólico especificado (0,5%). O tempo de operação variou de 3 horas e cinquenta e seis minutos até 11 horas e 36 minutos, dependendo da carga térmica empregada.

A análise estatística da matriz de valores que compõe a Tabela 22 demonstrou que a quantidade de etanol no acumulado (E_{AC}) foi influenciada de forma significativa pelos efeitos combinados da carga térmica e da razão de refluxo em que, para os valores maiores de ambos, foram obtidas as maiores quantidades.

A razão de refluxo influencia significativamente na quantidade dos componentes retidos no produto de fundo (C_F). Para razões mais altas, a retenção desses compostos foi maior porque a razão de refluxo força uma melhor separação dos componentes que estão sendo destilados. Assim, para uma maior razão de refluxo obtém-se maior pureza de constituintes no topo, para um mesmo número de estágios. É evidente que isso tem um preço: aumenta o consumo energético na operação. Como no processo de desalcoolização de bebidas a manutenção dos constituintes do aroma do produto de origem no produto desalcoolizado é desejável, razão de refluxo mais alta pode ser empregada, por ser uma variável de fácil manejo em uma coluna real.

Com relação à quantidade de produto acumulado e à quantidade de produto de fundo, não foi observada influência significativa de nenhuma das variáveis utilizadas nas simulações.

As porcentagens retidas dos constituintes voláteis da mistura base nas condições do ensaio de simulação 7 está mostrada na Figura 15.

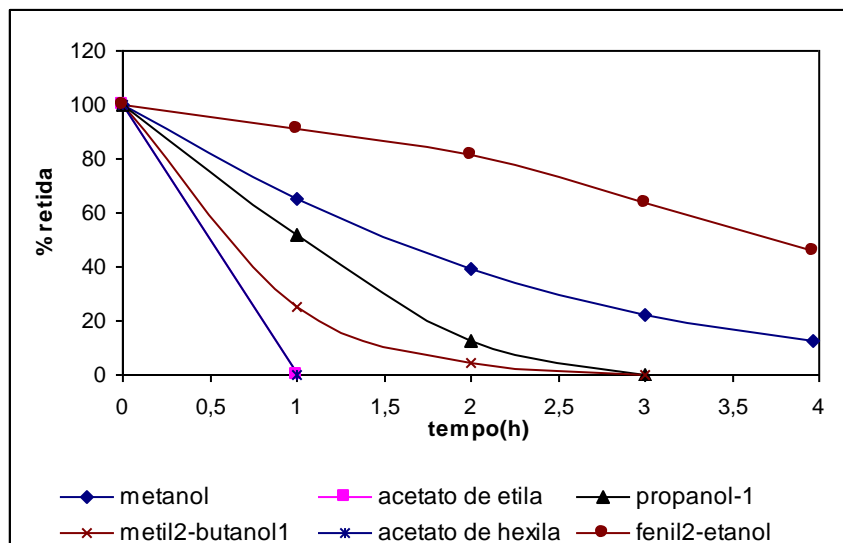


FIGURA 15 - Porcentagens retidas dos constituintes voláteis da mistura base nas condições de simulação do ensaio 7.

As condições do ensaio de simulação 7 permitiram maior retenção dos constituintes do aroma no produto desalcoolizado em um tempo de operação adequado às condições industriais.

A concentração de etanol especificada para a mistura (0,5%) foi alcançada após 3 horas e 56 minutos de processo nas condições do ensaio 7 (Tabela 7 item

3.2.5.1). Os componentes: acetato de etila e acetato de hexila foram completamente removidos da mistura base após a primeira hora de processo e o propanol-1 e o metil2- butanol 1 ao final da terceira hora.

A remoção do metanol foi da ordem de 87% em relação ao valor inicial enquanto que o 2- fenil- etanol foi o composto retido em maior proporção (retidos 46% do valor inicial).

4.2.4 Simulações com diferentes razões de refluxo

Para explicitar a influência da razão de refluxo na composição do produto de fundo (caldeira), foram feitas simulações do processo com razões de refluxo 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0 e 4,5. As demais condições foram semelhantes às do ensaio 7.

A evolução do etanol e dos demais constituintes da mistura (metanol, acetato de etila, propanol-1, metil2-butanol 1, acetato de hexila e 2-fenil-etanol) no ensaio com razão de refluxo igual a 4,5 e 1,0 estão identificados na FIGURA 16. Com a elevação da razão de refluxo pretende-se promover uma separação entre o etanol e os constituintes do aroma, de modo à preferencialmente retê-los no produto de fundo melhorando as características sensoriais do produto final. No entanto, uma comparação entre os resultados mostrados nas Figuras 16a e 16b indica que as relações termodinâmicas de equilíbrio entre a fase líquida e vapor fazem com que juntamente com o etanol estes constituintes sejam retirados no produto de topo, mesmo com o aumento de 1 para 4,5 na razão de refluxo.

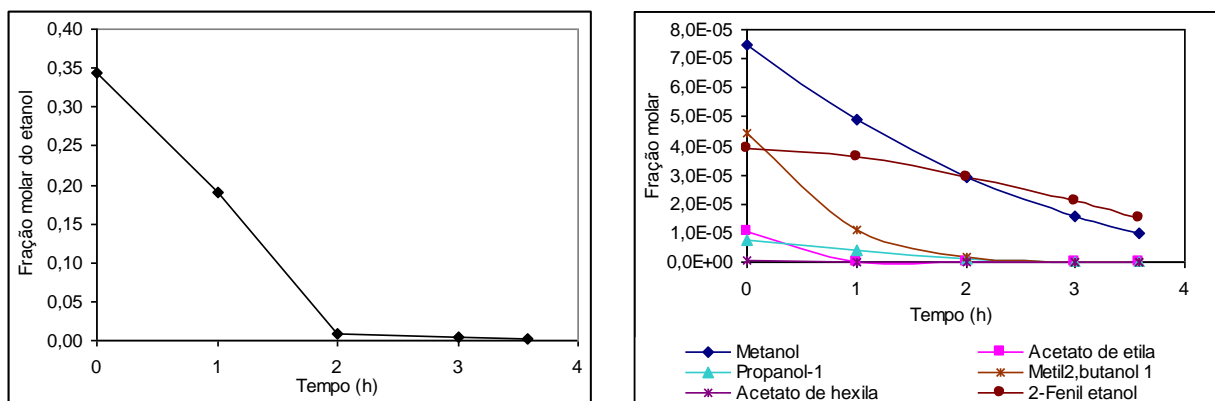


FIGURA 16a

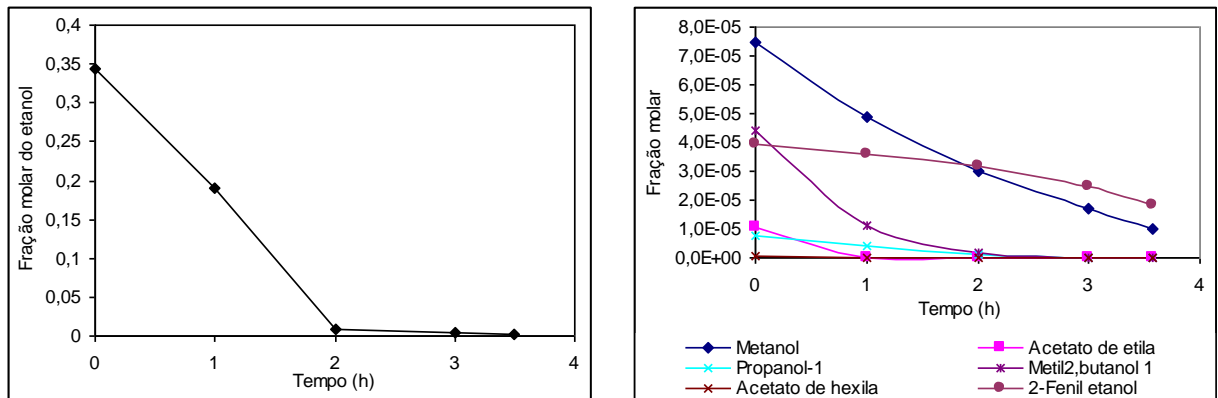


FIGURA 16b

FIGURA 16 - Evolução dos constituintes voláteis da mistura base nas condições de simulação do ensaio 7. (FIGURA 16a) – Razão de refluxo = 4,5. (FIGURA 16b) - Razão de refluxo = 1,0.

Os componentes que permaneceram no produto de fundo em quantidades apreciáveis ao término da destilação foram o metanol e 2- fenil etanol. A porcentagem de retenção desses componentes nas diferentes razões de refluxo está demonstrada na FIGURA 17.

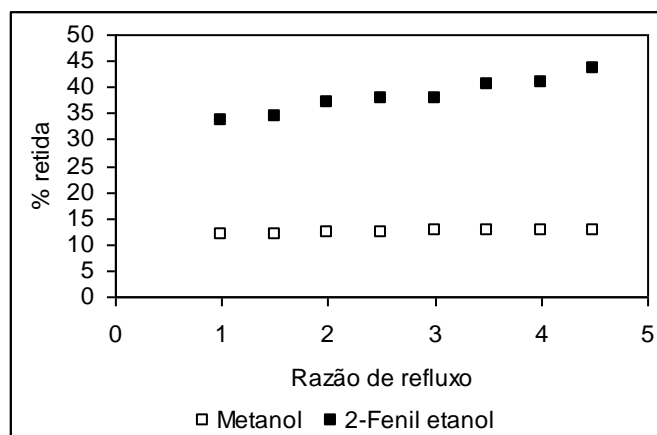


FIGURA 17 - Porcentagens de metanol e 2-fenil etanol retidas no produto desalcoolizado em diferentes razões de refluxo.

Na escolha da razão de refluxo mais adequada deve-se considerar que o aumento na razão de refluxo implica em aumento do consumo energético na operação. A análise sensorial dos produtos desalcoolizados pode contribuir para a definição dessa variável do processo.

4.2.5 Destilação em coluna piloto da sidra obtida nas condições do ensaio de fermentação 5.

Dois ensaios de destilação da sidra escolhida (fermentação com a cepa *Saccharomyces cerevisiae* CK e temperatura entre 23-26 °C) foram feitos variando-se a carga térmica na caldeira: 1 017 336 J.h⁻¹ (Destilação1) e 670 464 J.h⁻¹ (Destilação 2). As demais condições dos dois ensaios estão listadas abaixo.

Destilação 1

Vácuo = 620 mmHg (Pressão absoluta = 61 mmHg)

Temperatura de fundo (início da destilação) = 42 °C

Temperatura de fundo (final da destilação) = 42,5 °C

Razão de refluxo = 0,8

Volume inicial no refervedor = 3000mL

Volume de amostras coletadas = 281,09 mL

Volume de destilado ao término da destilação = 130,37mL

Concentração de etanol no produto de topo ao término da destilação = 37,8 % (p/v)

Volume de sidra desalcoolizada = 2535 mL

Perdas = 1%

Destilação 2

Temperatura de fundo = 41 °C

Vácuo = 621 mmHg (Pressão absoluta = 58 mmHg)

Razão de refluxo = 1,05

Volume inicial = 3 000mL

Volume de amostras coletadas = 243,8 mL

Volume de destilado ao término da destilação = 146,06 mL

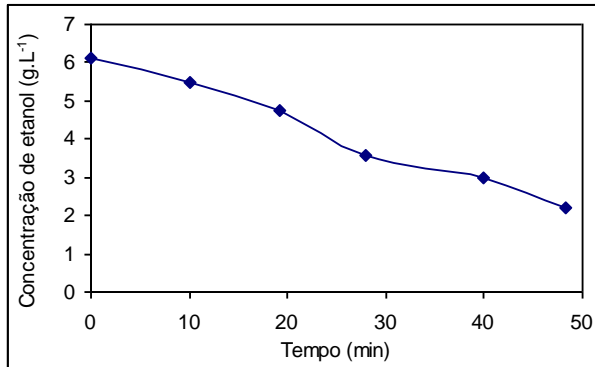
Concentração de etanol = 26,5 % (p/v)

Volume de sidra desalcoolizada = 2 610 mL

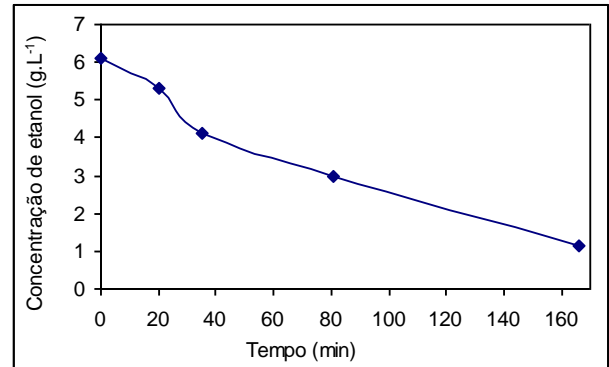
Perdas = 0,3%

A evolução da separação do etanol no produto de fundo nos dois ensaios de destilação está demonstrada na FIGURA 18. As amostras foram coletadas do fundo

da caldeira com o auxílio de uma bomba peristáltica que permitiu a amostragem sem que houvesse a “quebra do vácuo no equipamento” e o desequilíbrio do sistema.



(18a)



(18b)

FIGURA 18 - Evolução da separação do etanol durante a destilação. FIGURA 18a (Destilação 1) e FIGURA 18b (Destilação 2).

O tempo para diminuição de 50% da concentração de etanol dobrou com a diminuição da carga térmica de $1\,017\,336\text{ J.h}^{-1}$ para $670\,464\text{ J.h}^{-1}$.

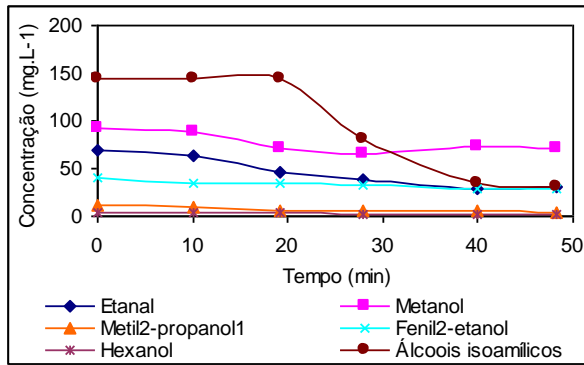
A evolução da separação dos componentes voláteis identificados na sidra foi acompanhada por cromatografia em fase gasosa, durante o processo de desalcoolização.

Na FIGURA 19 estão representados os perfis da evolução da separação de etanol, metanol, 2-Fenil etanol e álcoois superiores nos dois ensaios.

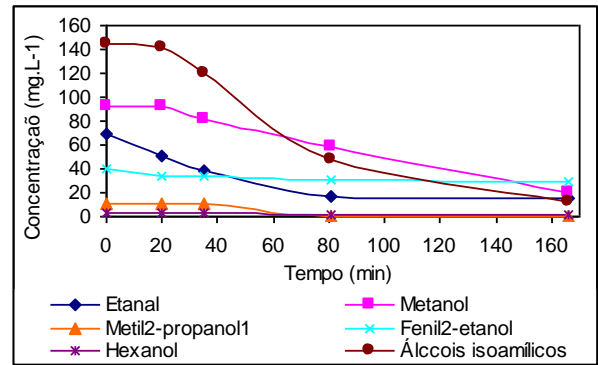
O etanol, componente de baixo ponto de ebulição, ficou retido em quantidades apreciáveis nas sidras desalcoolizadas. Pérez *et al.* (1989), constataram que houve retenção de 64% desse composto em vinho tinto desalcoolizado por destilação a vácuo em planta piloto.

Dentre os álcoois, o fenil2-etanol foi o composto retido em maior proporção nas sidras desalcoolizadas, confirmando o resultado dos processos de simulação de desalcoolização da mistura base de álcoois. Esse resultado também foi obtido em vinho branco, desalcoolizado por destilação descontínua a vácuo por Silva *et al.*,(2003).

A permanência do fenil2-etanol no produto desalcoolizado é importante já que, segundo Pollard (1966), esse composto contribui efetivamente para o aroma característico dos fermentados.



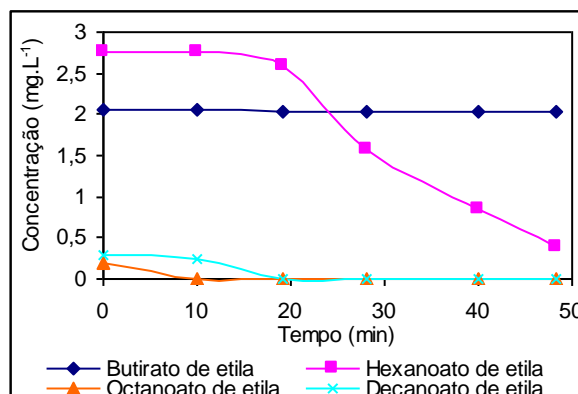
(FIGURA 19a)



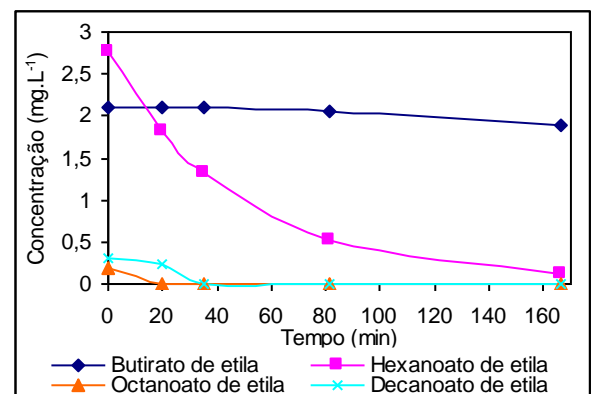
(FIGURA 19b)

FIGURA 19 - Evolução da separação dos constituintes identificados na sidra: etanal, metanol e álcoois superiores. FIGURA 19a (Destilação1) e FIGURA 19b (Destilação2).

Na FIGURA 20 estão representados os perfis da evolução da separação dos ésteres etílicos de ácidos graxos identificados nas sidras, nas 2 destilações com carga térmica $1\ 017\ 336\ \text{J.h}^{-1}$ (FIGURA 20a) e de $670\ 464\ \text{J.h}^{-1}$ (FIGURA 20b).



(FIGURA 20 a)

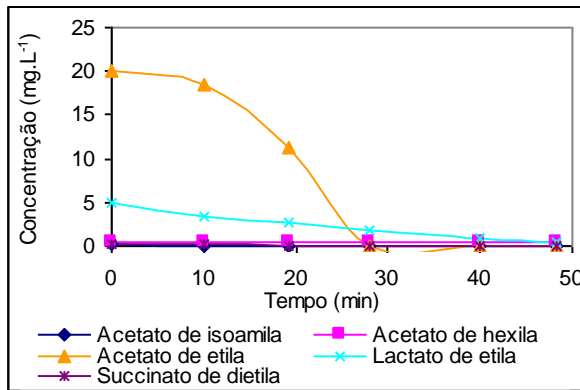


(FIGURA 20b)

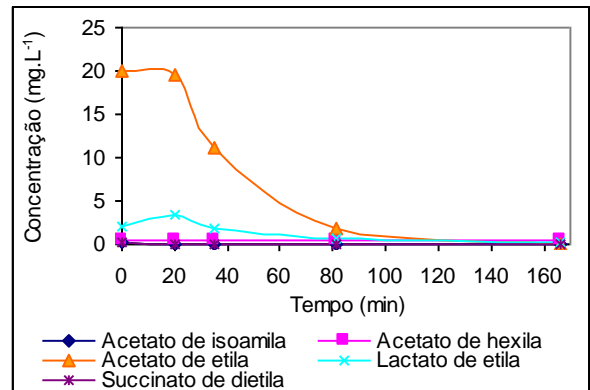
FIGURA 20 - Evolução da separação dos ésteres etílicos de ácidos graxos FIGURA 20a (Destilação1) e FIGURA 20b (Destilação2).

O butirato de etila foi o composto retido em maior proporção nas duas condições de carga térmica do processo.

Na FIGURA 21 estão representados os perfis da separação dos acetatos de álcoois superiores, acetato de etila, lactato de etila e succinato de dietila identificados nas sidras, nas 2 destilações com carga térmica $1\ 017\ 336\ \text{J.h}^{-1}$ (FIGURA 21a) e de $670\ 464\ \text{J.h}^{-1}$ (FIGURA 21b).



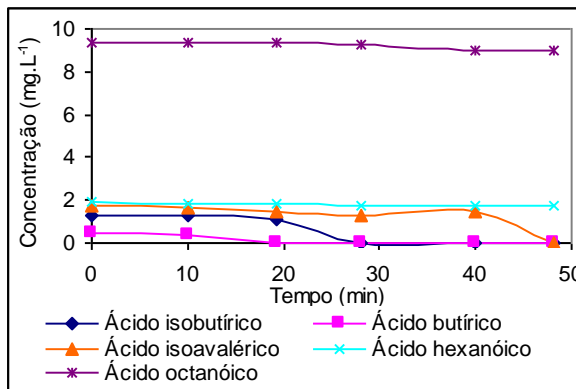
(FIGURA 21a)



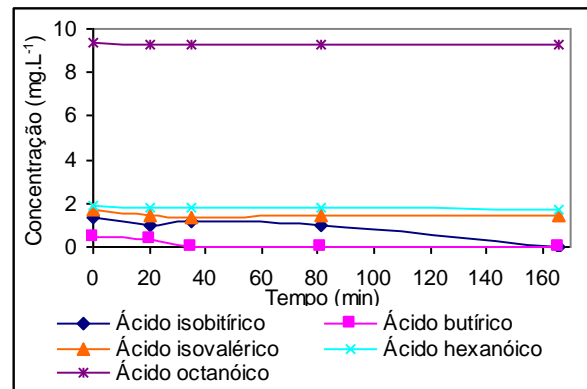
(FIGURA 21b)

FIGURA 21 - Evolução da separação dos acetatos de álcoois superiores, acetato de etila, lactato de etila e succinato de dietila. FIGURA 21a (Destilação1) e FIGURA 21b (Destilação2).

Na FIGURA 22 estão representados os perfis da separação dos ácidos graxos voláteis (isobutírico, butírico e isovalérico) e dos ácidos graxos livres (hexanóico e octanóico), nas 2 destilações com carga térmica $1\ 017\ 336\ \text{J}\cdot\text{h}^{-1}$ (FIGURA 22a) e de $670\ 464\ \text{J}\cdot\text{h}^{-1}$ (FIGURA 22b).



(FIGURA 22a)



(FIGURA 22b)

FIGURA 22 - Evolução da separação dos ácidos graxos voláteis (isobutírico, butírico e isovalérico) e dos ácidos graxos livres (hexanóico e octanóico). FIGURA 22a (Destilação1) e FIGURA 22b (Destilação2).

Os ácidos graxos livres “mais fixos” como o hexanóico e octanóico ficaram retidos em maior proporção nas sidras desalcoholizadas.

As características analíticas da sidra inicial e das sidras desalcoholizadas nos dois ensaios de destilação estão mostradas na Tabela 23.

TABELA 23 - Características da sidra de origem e das sidras após desalcoolização.

	Sidra inicial	Sidra desalcoolizada (Destilação1)	Sidra desalcoolizada (Destilação 2)
Etanol (g.L ⁻¹)	60,8	21,9	11,3
PH	3,62	3,55	3,52
Cor (440nm)	0,092	0,101	0,107
Cor (520nm)	0,029	0,032	0,033
¹ Fenóis totais (mg.L ⁻¹)	408,6	411,2	410,3
² Acidez volátil (%)	0,09	0,03	0,06
Acidez total	3,91	4,25	4,25
Acúcares totais (g.L ⁻¹)	1,60	1,80	1,80
Etanal (mg.L ⁻¹)	69,64	29,98	15,03
Metanol (mg.L ⁻¹)	91,91	70,79	20,74
Álcoois superiores (mg.L ⁻¹)	198,65	67,15	42,22
Ésteres (mg.L ⁻¹)	31,36	3,24	2,64
Ácidos graxos (mg.L ⁻¹)	14,76	10,70	12,45

¹ expressos como catequina ² expresso como ácido acético

As concentrações dos constituintes da sidra variam de um ensaio para o outro porque o volume destilado ao longo do tempo não é o mesmo, promovendo separações distintas para um mesmo tempo de operação. Com a diminuição de 64% e de 81,4% do teor de etanol, a retenção dos componentes do aroma identificados na sidra de origem foi da ordem de 44,8% e de 23 % nas sidras desalcoolizadas nos ensaios de destilação 1 e 2, respectivamente. A concentração final de etanol caracteriza os produtos como sidras com teor diminuído em álcool. O efeito da redução do volume que ocorre durante o processo de desalcoolização foi notado principalmente na elevação da acidez total, da cor e da concentração de açúcares.

O processo descrito apresentou-se eficiente na redução do teor de etanol da sidra nos dois ensaios (64-81,4%). Os produtos desalcoolizados diferiram da sidra de origem na composição dos voláteis, acidez e cor.

As sidras desalcoolizadas obtidas neste processo podem servir como base para elaboração de bebidas de baixo teor alcoólico e a fração condensada pode ser usada para a fortificação de alguns tipos de vinho.

4.3 Análise sensorial

O perfil sensorial da sidra de origem e da sidra desalcoholizada por destilação descontínua a vácuo (Destilação 1), escolhida para a avaliação sensorial foram determinados por julgadores treinados, seguindo-se a metodologia de análise descritiva quantitativa (ADQ) conforme Stone; Sidel (1993).

4.3.1 Recrutamento e seleção dos julgadores

Foram recrutados – candidatos para os testes de reconhecimento de odores e gostos básicos. Foram selecionados 11 julgadores para compor a equipe de julgadores para o método descritivo devido ao poder discriminativo e repetibilidade (p para F amostra $\geq 0,50$ e p para F repetições $> 0,05$, respectivamente).

4.3.2 Padronização dos descritores (obtidos pelos julgadores) para a análise sensorial

Foi conduzida uma discussão com a equipe para agrupar os termos descritivos mais utilizados. Foram eliminados aqueles sinônimos, duvidosos e os que apareceram com frequência baixa, sendo escolhidos 8 termos. Foi feito um glossário com esses termos para facilitar o consenso entre os julgadores, e que foi utilizado durante as análises. A definição dos termos descritores, bem como as referências de intensidade que ancoraram os extremos das escalas durante o treinamento dos julgadores encontram-se na Tabela 24.

TABELA 24 - Definições e referências para os termos descritores levantados pelos julgadores.

Termo descritor	Definição	Referência
APARÊNCIA		
Cor amarela	Cor semelhante à cor da cerveja	Pouco: 60 mL de vinho Branco de Mesa Suave da Marca Salton Muito: 60 mL de cerveja degaseificada da marca Skol
AROMA		
Alcoólico	Aroma de álcool, de bebida alcoólica	Pouco: 60 mL de solução aquosa de vodka da marca Romanoff 1:5 (v/v) Muito: 60 mL de solução aquosa de vodka da marca Romanoff 1:2 (v/v)
Nota Frutal	Aroma semelhante à fruta madura	Pouco: 60 mL de solução aquosa de suco despectinizado de maçã variedade Belgolden 1:1 (v/v) Muito: 60 mL de suco despectinizado de maçã variedade Belgolden
Fermentado	Relacionado ao aroma de fermento de panificação, cerveja	Pouco: 60 mL de solução aquosa de cerveja degaseificada da marca Skol 1:1 (v/v) Muito: 60 mL de cerveja degaseificada da marca Skol
Cozido	Relacionado ao aroma de vinho fervido, suco fervido	Pouco: 60 mL de sidra da variedade Belgolden Muito: 80 mL de sidra da variedade Belgolden (fervura por 15 minutos).
GOSTO		
Doce	Gosto relacionado ao açúcar	Pouco: Solução aquosa de açúcar da marca Dolce 15 g/L Muito: Solução aquosa de açúcar da marca Dolce 50,0 g/L
Ácido	Gosto azedo, como vinagre ou limão	Pouco: Solução aquosa de ácido málico (Reagen) 0,20 g/L Muito: Solução aquosa de ácido málico (Reagen) 1,0 g/L
Amargo	Gosto relacionado ao café sem açúcar	Pouco: Solução aquosa de cafeína (Reagen) 0,15 g/l Muito: Solução aquosa de cafeína (Reagen) 0,3 g/l

4.3.3 Seleção final dos provadores

Dos 11 julgadores que participaram do desenvolvimento da terminologia apenas 9 permaneceram na equipe para os testes posteriores.

Os valores dos níveis de significância ($p_{\text{tratamento}}$), em função da discriminação das amostras, para cada julgador, em relação a cada atributo, estão indicados na Tabela 25.

TABELA 25 - Níveis de significância para julgadores em função da discriminação das amostras ($p_{\text{tratamento}}$).

Atributo	Julgador								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Cor amarela	0,0017	0,7621	0,4111	0,0337	0,8147	0,0679	0,4846	0,8944	0,4758
Aroma alcoólico	0,0617	0,2373	0,088	0,4793	0,81647	0,8850	0,4226	0,1181	0,5044
Nota frutal	0,5047	0,5068	0,7147	0,2548	0,0001	0,8075	0,0169	0,1929	0,5009
Aroma fermentado	0,1181	0,2826	0,5149	0,4770	0,0001	0,0882	0,0774	0,5850	0,0855
Aroma cozido	0,2665	0,5123	0,0026	0,5154	0,5000	0,0882	0,9495	0,2087	0,3843
Gosto doce	0,4226	0,4821	0,1217	0,3984	0,0001	0,522	0,4965	0,3046	0,016
Gosto ácido	0,0996	0,37565	0,5098	0,3970	0,1879	0,0093	0,1879	0,0122	0,1113
Gosto amargo	0,5052	0,3467	0,0151	0,2549	0,4226	0,5596	0,7407	0,3387	0,5054

De acordo com a Tabela 25, pode-se verificar que os julgadores 2, 3, 5 e 8 apresentaram valores de “p” maiores do que 0,5 na avaliação de um atributo e os julgadores 6 e 7 apresentaram resultados de “p” maiores do que 0,5 na avaliação de dois atributos, o que indicou poder de discriminação insatisfatório.

Os resultados referentes aos níveis de significância em função da repetibilidade ($p_{\text{repetição}}$), para cada julgador, em relação a cada atributo, estão indicados na Tabela 26. Observou-se que os julgadores 1, 5 e 7 apresentaram valores inferiores a 0,05 em um atributo, o que os caracterizou com menor poder de repetibilidade entre as amostras.

TABELA 26 - Níveis de significância para julgadores em função da repetibilidade ($p_{\text{repetição}}$)

Atributo	Julgador								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Cor amarela	0,9853	0,0797	0,6540	0,6748	0,7247	0,6449	0,4846	0,8944	0,4758
Aroma alcoólico	0,6806	0,5170	0,7045	0,7747	0,1234	0,6942	0,0355	0,4437	0,9059
Nota frutal	0,6466	0,7783	0,6583	0,6752	0,0001	0,6231	0,0563	0,3485	0,6802
Aroma fermentado	0,0040	0,6592	0,7192	0,3663	0,5120	0,3213	0,2748	0,6117	0,4447
Aroma cozido	0,3566	0,2581	0,4085	0,8078	0,2069	0,6101	0,6776	0,6564	0,0584
Gosto doce	0,1942	0,9737	0,5000	0,5299	0,2067	0,5524	0,5103	0,6017	0,4179
Gosto ácido	0,3340	0,332	0,1711	0,8337	0,5000	0,1042	0,4020	0,7179	0,3230
Gosto amargo	0,3187	0,4725	0,7797	0,4082	0,5524	0,3776	0,6794	0,1889	0,5631

Os julgadores que não apresentaram repetibilidade e discriminação foram submetidos a novas sessões de treinamento, somente para os atributos determinados.

4.3.4 Perfil sensorial das amostras de sidra

Os dados foram submetidos à Análise de Componentes Principais (ACP), que permite analisar globalmente os resultados. A Figura 21 sugere quais atributos ou descritores mais caracterizam as amostras e a Figura 22 evidencia as relações existentes entre elas (Lima *et al.*,1999).

A FIGURA 23 mostra o plano fatorial dos atributos das amostras de sidra. O primeiro Componente Principal (CP) explicou 47% da variação total que existe entre as amostras de sidra e os dois primeiros Componentes Principais (CPI E CPII) explicaram 76% da variabilidade entre as amostras.

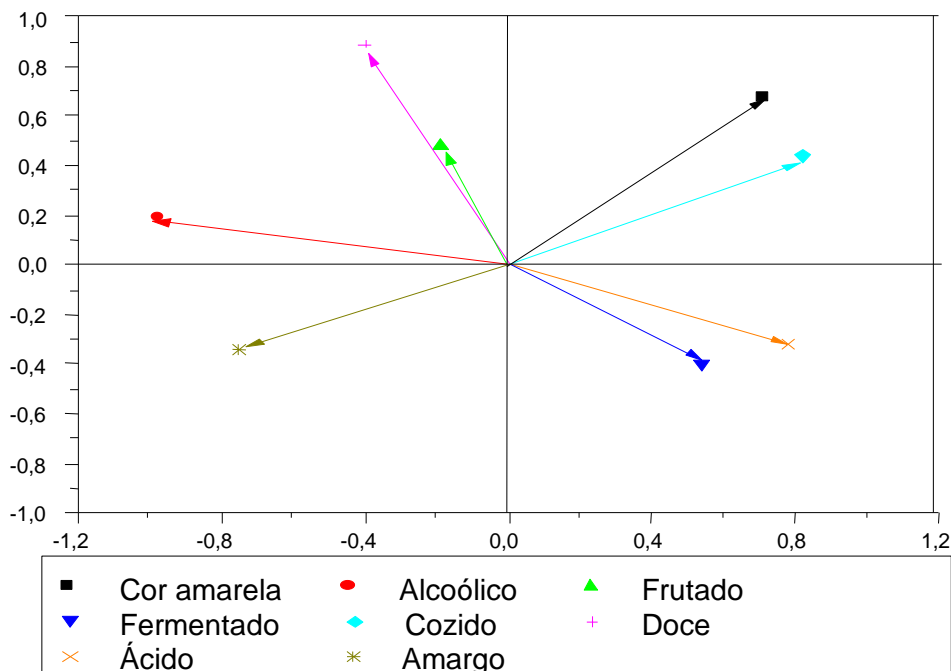


FIGURA 23 - Análise de componentes principais das duas amostras de sidra – representação dos atributos sensoriais.

Na ACP, os descritores sensoriais são representados como vetores, sendo que os que se apresentam longos ao serem decompostos em um eixo CP, explicam

mais a variabilidade entre as amostras mostradas naquele CP (Silva; Damásio, 1994a).

Verifica-se na FIGURA 23, que os 47% da variabilidade entre as amostras, explicada pelo primeiro Componente Principal foram devidos, principalmente aos atributos: aroma alcoólico, aroma cozido, gosto ácido, sabor amargo e cor amarela, que apresentaram correlação $\geq 0,70$ com este componente. A variabilidade no segundo Componente Principal (26%) está associada ao sabor doce cuja correlação com este componente foi $\geq 0,70$.

Vetores próximos uns dos outros indicam atributos que possivelmente apresentam alta correlação entre si. Assim, analisando-se a figura é possível sugerir a correlação linear positiva entre os atributos cor amarela e aroma cozido e correlação linear negativa entre cor amarela gosto amargo. Verificou-se por análise espectrofotométrica que a intensidade da cor amarela da sidra com teor reduzido em álcool é maior do que a do produto inicial e pode ser devida à redução do volume que ocorre durante o processo de destilação. O aroma “cozido” também pode estar relacionado com o processo de desalcoholização. O desequilíbrio no sabor do produto desalcoholizado com a predominância de notas ácidas, pode dificultar a percepção dos outros constituintes do sabor, dentre eles o gosto amargo (Mènoret,1990). O gosto doce possivelmente apresenta correlação linear positiva com o aroma frutado, como pode ser observado na FIGURA 23. Segundo LONA (1996), os aromas adocicados que lembram frutas maduras potencializam a percepção do gosto doce em vinhos. O álcool etílico e o glicerol também potencializam a sensação de doçura em vinhos, na opinião de alguns autores (Amerine, Roessler, 1983; Lona, 1996).

Os vetores que formam um ângulo de 180 graus entre si, provavelmente apresentarão correlação linear negativa significativa ($p < 0,05$). A FIGURA 23 sugere a existência de uma correlação linear negativa entre os atributos gosto ácido e aroma alcoólico. Possivelmente, na amostra com aroma alcoólico menos intenso o gosto ácido será mais perceptível. Segundo Mènoret (1990), o sabor agradável de um vinho devido ao equilíbrio entre o etanol, a adstringência e a acidez é progressivamente alterado durante a desalcoholização por destilação a vácuo. As notas ácidas predominam deixando a bebida muito “agressiva”. O desequilíbrio é completo quando todo o álcool é eliminado. Uma redução na percepção do aroma alcoólico é esperada após a remoção do etanol pela destilação.

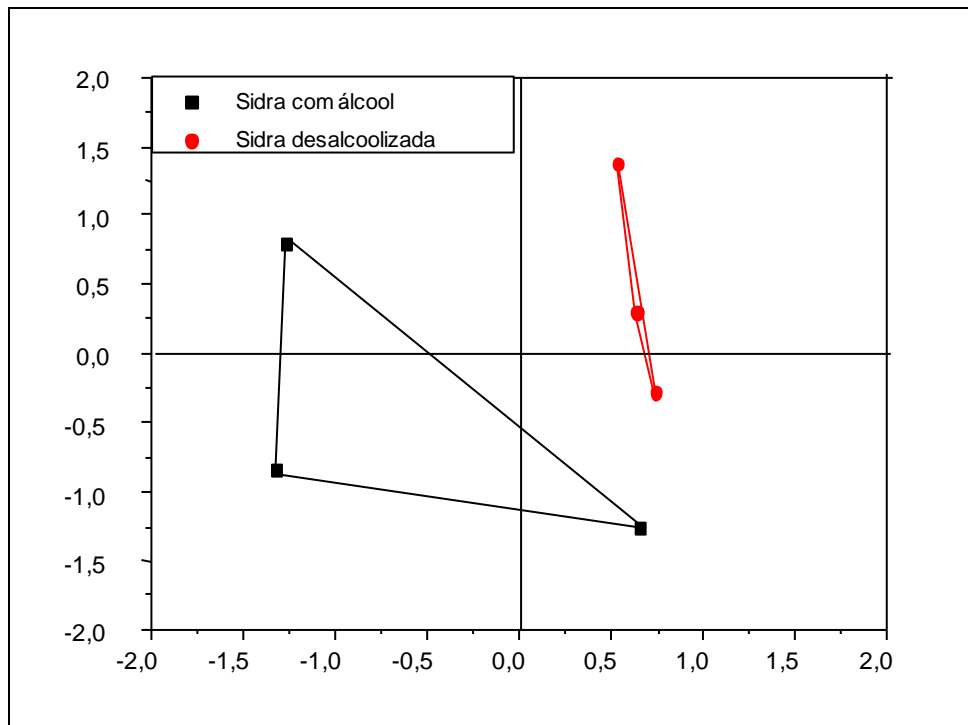


FIGURA 24 - Análise de componentes principais das amostras de sidra com álcool e sidra desalcoholizada – representação das amostras.

Na FIGURA 24, as amostras estão representadas por triângulos, cujos vértices indicam as médias de cada repetição realizada pela equipe de análise sensorial. Quando os vértices dos triângulos estão próximos, indica que houve boa repetibilidade das avaliações pela equipe. A repetibilidade para a sidra desalcoholizada foi melhor do que para a sidra com álcool, o que não impediu a discriminação entre elas.

O primeiro Componente Principal permitiu a discriminação entre a sidra com álcool e a sidra desalcoholizada. A amostra de sidra com álcool ficou alocada à esquerda, enquanto que a sidra desalcoholizada ficou à direita.

Na ACP, as amostras localizam-se na mesma região que as caracterizam, quando os espaços das amostras e dos atributos são sobrepostos. Portanto, a amostra de sidra com álcool foi caracterizada por apresentar maior intensidade de aroma alcoólico, gosto amargo e gosto doce, enquanto que a amostra de sidra desalcoholizada foi caracterizada por apresentar maior intensidade de cor amarela, aroma cozido e gosto ácido.

A ACP é uma forma gráfica de representar os resultados, e como tal, apenas sugere certas tendências. Para verificar as sugestões da ACP, os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias.

A ADQ das amostras de sidra foi realizada por nove julgadores treinados e através da ANOVA dos resultados, verificou-se se havia interação significativa ($p < 0,05$) entre tratamento e julgador (Apêndices A-H).

De acordo com Stone; Sidel (1993), quando o valor de F para interação tratamento x julgador for significativo ($p < 0,05$), é necessária a construção de gráficos para constatar se as interações são graves ou não. Todas as interações significativas acontecem em razão das notas de intensidade terem sido registradas pelos julgadores em porções diferentes nas escalas. Verificou-se que não houve interação significativa para os oito atributos: cor amarela, aroma alcoólico, nota frutal, aroma fermentado, aroma cozido, gosto doce, gosto ácido e gosto amargo.

Nas análises de variância efetuadas, os valores de $F_{\text{julgadores}}$ foram significativos para todos os atributos, o que pode ser explicado, apesar do treinamento, que os julgadores provavelmente usaram diferentes níveis da escala para expressar a sensação provocada por uma mesma amostra. Esta não é uma ocorrência incomum e é difícil de ser evitada na análise sensorial (Silva; Damásio, 1994b).

Os valores obtidos de $F_{\text{tratamento}}$ foram significativos para os atributos cor amarela, aroma alcoólico e gosto amargo indicando que os provadores identificaram diferenças sensoriais entre as amostras testadas. Os valores médios para cada atributo estão representados na Tabela 27.

A sidra com teor diminuído em álcool apresentou maior intensidade média para o atributo cor amarela em relação à sidra com álcool. O gosto amargo e o aroma alcoólico foram mais intensos para a sidra com álcool. Para os atributos nota frutal, aroma fermentado, aroma cozido, sabor doce e sabor ácido, não houve diferença significativa entre as duas amostras de sidra avaliadas.

TABELA 27 - Intensidade média dos atributos sensoriais para a sidra com álcool e para a sidra desalcoholizada conforme Avaliação Descritiva Quantitativa

Atributos	Amostra	
	Sidra com álcool	Sidra desalcoholizada
Aparência		
Cor amarela *	3,53 ^a	5,31 ^b
Aroma		
Alcoólico *	3,73 ^a	2,26 ^b
Nota frutal *	2,77 ^a	2,54 ^a
Fermentado *	2,69 ^a	2,61 ^a
Cozido *	1,75 ^a	2,21 ^a
Sabor		
Gosto doce *	1,05 ^a	1,09 ^a
Gosto ácido *	6,07 ^a	6,28 ^a
Gosto Amargo *	6,21 ^a	3,82 ^b

* Médias de três repetições e nove provadores; ^{a, b} Médias na mesma linha acompanhadas de letras iguais, não diferem entre si, pelo teste de Tuckey ($p \leq 0,05$).

Estes resultados abrem como perspectivas o desenvolvimento de produtos tendo como base as sidras desalcoholizadas que exigirá um estudo detalhado do mercado, análise dos produtos similares existentes, definição de ingredientes, ensaios de formulações, definição dos processos de fabricação e embalagens, análises de aceitação e preferência.

O aumento de escala do processo de desalcoholização pode ser feito já que se pode diminuir, com o auxílio do simulador, o número de experimentos necessário para determinar as condições operacionais adequadas para a obtenção de cada bebida minimizando-se gastos com matérias-primas e com utilidades.

5 CONCLUSÕES

As sidras obtidas de mostos tratados com ativadores de fermentação não apresentaram características distintas da sidra testemunha que justificassem seu uso.

O processo fermentativo conduzido entre 8-10 °C foi mais lento se comparado com o processo industrial porém a qualidade do produto não justifica a instalação de uma prática não convencional.

O produto mais indicado para o processo de desalcoholização foi o obtido com a cepa *Saccharomyces cerevisiae* CK em temperatura entre 23-26 °C, em função da análise do perfil dos aromas por cromatografia em fase gasosa bem como da análise olfativa.

O produto desalcoholizado diferiu do de origem na composição e no teor dos voláteis, acidez, gosto amargo e cor, de acordo com as análises físico-químicas, cromatográficas e sensoriais.

O processo de destilação a vácuo mostrou-se adequado na prevenção da degradação térmica dos constituintes termo-sensíveis.

Há uma destilação simultânea do etanol com importantes constituintes do aroma do produto.

O programa de simulação revelou-se satisfatório enquanto ferramenta para definir as condições operacionais adequadas para a separação do etanol de diferentes misturas.

As razões de refluxo mais altas são mais eficientes para a retenção de maior quantidade de constituintes de aroma da bebida enquanto o número de estágios se mostra pouco significativo.

As simulações do processo mostraram que o destilador a vácuo pode ser constituído de dois a quatro estágios de separação com razão de refluxo entre 1 e 2.

6 REFERÊNCIAS

AGENBACH, W. A. A study of must nitrogen content in relation to incomplete fermentations, yeast production and fermentation activity. **Proceedings of South African Society for Enology and Viticulture**. South of Africa. p. 66-87,1977.

AMERINE, M. A.; ROESSLER, E. B. **WINES – AN INTRODUCTION**. DAVIS :UNIVERSITY OF CALIFORNIA PRESS, 1983. 356 p.

ABPM - Associação Brasileira de Produtores de Maçã. **Dados estatísticos sobre a cultura da macieira**. Disponível em:<<http://www.abpm.org.br>> Acesso em 10 mar. 2004.

AYRAPAA, T. Formation of higher alcohols and esters by brewer's yeasts. **Proceedings of the Third International Specialized Symposium on Yeasts**. p. 31-45, 1973.

ASKAR, A. Patulin in apple juice and children's apple food. Part. I. Toxicological and legal aspects. **Fruit Processing**, Schönborn, v. 9, n. 3, p. 74-78, 1999.

BARON, A.; BOHUON, G.; DRILLEAU, J. F. Évolution au cours de la maturation, des fractions azotées et des acides aminés dans la pomme et dans le moût correspondant. **Sciences des Aliments**. v. 2, n. 1, p. 15-23, 1982.

BEECH, F.W; CARR, J.G. Cider and Perry. In ROSE, A. H. **Economic microbiology**, London: Academic Press, 1977. p. 139-313.

BERTRAND, A. **Recherches sur l'analyse des vins par chromatographie en phase gazeuse**. France,1975. Thèse. (Docteur d'Etat ès Sciences) - Université de Bordeaux II.

_____. Influence du débourage et de la température de fermentation sur les teurs en substances volatiles des vins blancs. **Annales de Technologie Agricole**, v. 27, n.1, p. 231-233,1978.

_____. Formation des substances volatiles au cours de la fermentation alcoolique. Incidence de la qualité du vin. **Collectanea de la Societé Française de Microbiologie**, p. 251-267, 1981.

_____. Les substances aromatiques des fermentations. In: **Journée de rencontres oenologiques: les arômes des vins**,1996, Faculté de Pharmacie, Montpellier, France, **Comptes Rendues de la Journée de Rencontres Oenologiques: les arômes des vins**. Montpellier,1996a. p. 1-11.

_____. Melhoria dos aromas varietais dos vinhos por via enzimática. **Apostila – Embrapa - Associação Brasileira de Enologia**, 1996b.

BERTRAND, A.; MARLY-BRUGEROLLE, C.; SARRE, C. Influence du débouillage des moûts et du sulfitage sur les teneurs en substances volatiles des vins et des eaux-de-vie. **Connaissance de la Vigne et du Vin**, v. 12, n. 1, p. 35-48,1978.

BEZENGER, M. C.; NAVARRO, J.M.; SABLAYROLLES, J.M.; BARRE, P. Suivi de fermentation à l'aide d'un microordinateur personnel - Application à la fermentation alcoolique en oenologie. **Industries Agricoles et Alimentaires**. v. 102, p. 1283-1291, 1985.

BEZENGER, M.C.; NAVARRO, J.M.. Alcoholic fermentation: model accounting for initial nitrogen influence. **Biotechnology and Bioengineering**, Amsterdam, v. 31, n. 7, p. 747, 1988.

BINNIG, R. ; POSSMANN, P. Apple juice. In : NAGY, S. ; CHEN, C. S. ; SHAW, P. E. **Fruit Juice. Processing Technology**. Auburndale : Agscience, 1993. p. 271-317.

BORZANI, W. Biotecnologia - Tecnologia de Fermentações. São Paulo: Editora da USP,1983. 285p.

BOUCHER, A.R. **Preparation of wine having low caloric content and reduced alcohol content**. United States Patent US 4 405 652, 20/9, 1983.

_____. **Verfahren und Vorrichtung zur Herstellung eines alkoholfreien Weingetränks**. Deutsche Offenlegungsschrift DE 3 429 777 AI, 28/2,1985.

_____. **Preparation of alcohol free wine**. United States Patent US 4 775 538, 1988.

BRASIL. Norma de identidade e qualidade da sidra. In: D.O.U. **Portaria nº746, de 24 de outubro de 1974**. Brasília: Diário Oficial da União, 1974. p. 16-35.

BURROUGHS, L. F. The amino-acids of apple juices and ciders. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 8, n. 3, p. 122-131, 1957.

CANTAGREL, R.; SYMONDS, P.; CARLES, J. Composition en acides aminés du moûts en fonction du cépage et de la technologie et son influence sur la qualité du vin. **Sciences des Aliments**. v. 2, n. 1, p. 109-142, 1982.

CASEY, G. P.; MAGNUS, C. A.; W.M; INGLEDEW. High gravity brewing: effects of nutrition on yeast composition, fermentative ability and alcohol production. **Applied and Environmental Microbiology**. Washington, v. 48, p. 639-646, 1984.

CHERUBIM, R. A. **Agroindústria da maçã**. Relatório final de estágio na área de agroindústria de maçã. RHAÉ – AGROINDÚSTRIA - CNPq - Desenvolvimento Tecnológico e industrial - DTI. Ponta Grossa, 1996.

Copersucar- Cooperativa de Produtores de cana, açúcar e álcool do Estado de São Paulo Ltda. – **Apostila - Destilação** ,1987.

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

DAMÁSIO, M. H.; COSTELL, E. Analisis Sensorial Descriptivo : Generación de descriptores y selección de Catadores. **Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 165-178, 1991.

DAUDT, C. E.; OUGH, C. S. Variations in some volatile acetate esters formed during grape juice fermentation. Effects of fermentation temperature, SO₂, yeast strain and grape variety. **American Journal of Enology and Viticulture**. Davis, v. 24, n. 3, p. 130-135, 1973.

DÉGLON, H. **Procedé pour le séparation des alcools et essences volatiles des autres produits dans les mélanges obtenus par fermentations**. Schweizer Patente 564 603, 15/6,1975.

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

_____. Réunion annuelle Certec: azote et fermentation ; composés phénoliques et oxydation. **Pomme**. n. 33, p. 24-25, 1993.

_____.La cidrerie. In: BOURGEOIS, C. M.; LARPENT, J. P. **Microbiologie alimentaire, aliments fermentés et fermentations alimentaires**. Tome 2. 1996. p. 138-161.

DUPUY, P. ; MORFAUX, J. N ; USCIATTI, M. Fermentation et vinification. **2° Symposium International d' Oenologie de Bordeaux**, 1967.

DÜRR, P. The flavour of cider. In: MORTON, I. D.; MACLEOD, A.J. **Food flavours. Part B. The flavour of beverages**. England: Elsevier, 1986. p.85-97.

DUTCOSKI, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba. Univ. Champagnat. 1996.

EHRlich,F. ; PITSCHIMUKA, P. Überführung von Aminen in Alkohole durche hefe und schimmelpilze, **Berichte Deutsche Chemie Gesellschaft**, v. 45, 1912. p.1006-1012.

Epagri.- Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A. **A cultura da macieira**, Florianópolis, 2002. 743p.

GRAY, C. In : JUICE TECHNOLOGY WORKSHOP. **History of the spinning cone column**. Special report 67. Cornell University, 1993.

HARRISON, J. S. ; GRAHAN, J. C. J. Yeasts in distillery practice. In: ROSE, A. H. ; HARRISON, J. S. **The yeasts**. New york, Academic Press, 1970. v.3, p.283-348.

HENSCHKE, P. A.; JIRANEK, V. Yeasts - metabolism of nitrogen compounds. In: FLEET, G. H. **Wine microbiology and biotechnology**. 1992. p. 77-164.

HERESZTYN, P. A. Conversion of glucose to gluconic acid by glucose oxidase enzyme in Muscat Gordo juice. **The Australian Grapegrower and Winemaker**, p. 25-27, april 1987.

IAL. Métodos físicos e químicos para análise de alimentos. In: IAL. **Normas Analíticas**. 3. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1976.

JACQUIN, F.; TAVERNIER, J. Sur l'importance relative de l'azote et du phosphore dans la fabrication des cidres doux. **Comptes Rendues de l'Academie d'Agriculture de France**. p. 1-5, 1951.

JIRANEK, M.; LANGRIDGE, P.; HENSCHKE, P.A. Nitrogen requirements of yeast during wine fermentation. In: 7° Australian Wine Industry Technical Conference. 1990, Adelaide. **Proceedings of the 7° Australian Wine Industry Technical Conference**, Adelaide, 1990. p. 166-177.

JONES, M.; PIERCE, J. S. Absorption of amino acids from wort by yeasts. **Journal of the Institute of Brewing**. v. 70, p. 307-315, 1964.

JONES, M.; PRAGNELL, M.J.; PIERCE, J.S. Absorption of amino acids from wort by yeasts. **Journal of the Institute of Brewing**. London, v. 70, p. 307-315, 1969.

KAPELLI, O. **Process for manufacture of sugar-free or low sugar fruit juice, and fruit juice prepared by this process**. Swiss Patent CH 668-887 AS, 1989.

KARLSSON; H.O.E.; TRÄGARDH, G. Applications of pervaporation in food processing. **Trends in Food Science & Technology March**, v. 7, 1997.

KAVANAGH, T. E.; CLARK, B. J.; GEE, P. S.; MILES, M. Volatile flavour compounds in low-alcohol beers. **Technical Quaterly of Masters Brewer's Association of the Americas**. V. 28, p. 111-118, 1991.

KENNEDY, M.; LIST, D.; LU, Y.; FOO, L. Y., *et al.* Apple pomace and products derived from apple pomace : uses, composition and analysis. **Modern methods of plant analyses. Analysis of plant waste materials**. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, 1999. p. 75-119.

KIRSOP, B. H., BROW, M.L. Some effects of wort composition on the rate and extend of fermentation by brewing yeasts. **Journal of the Institute of Brewing**. London, v. 78, p. 51-57, 1972.

KOHLER, D. Étude des technologies nouvelles d'elaboration de cidres. Compiègne, 1988. DEA. UTC de Compiègne.

LAPLACE, J. M.; JACQUET, A.; TRAVERS, I.; SIMON, J. P., *et al.* Incidence of land and physicochemical composition of apples on the qualitative and quantitative

development of microbial flora during cider fermentations. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 107, n. 4, p. 227-233, 2001.

LATRASSE, A. ; DAMERON, P. ; HASSANI, M. ; STARON, T. Production d'un arôme fruité par *Geotrichum candidum*. **Sciences des Aliments**, Cachan, v. 7, p. 637-645, 1987.

LEA, A. G. H. Juice composition and its effect on cider quality. **Flüssiges Obst**, Schönborn, v. 56, n. 12, p. 744-750, 1989.

_____. Cidermaking. In: LEA, A. G. H.; PIGGOTT, J. R. **Fermented beverage production**. 1995. p. 66-96.

LEA, A. G. H.; DRILLEAU, J.F. Cidermaking. In: LEA, A. G. H., PIGGOTT, J.R. **Fermented Beverage Production**. 2 ed. London: Blackie Academic & Professional, 2003, no prelo.

LEGUERINEL, I. ; CLERET, J. J. ; BOURGEOIS, C. ; MAFART, P. Yeast strain and the formation of flavour components in cider. **Journal of the Institute of Brewing**. London, v. 96, p. 391-395, 1988.

LEITE, F. **Validação em Análise Química**. Campinas : Átomo, 2002. 278 p.

LEPE, J. A. S. **Levaduras vínicas, funcionalidad y uso en bodega**. Madri : Mundi-Prensa ,1997. 269 p.

LEQUÉRÉ, J. M. Fermentation lente du cidre. Pour une élaboration de qualité. **Pomme**. n. 22, p. 17-19, 1991.

LEQUÉRÉ, J. M.; DRILLEAU, J. F. Fermentation of french cider, the process and yeast species. In: **Fermentation - Food, Drink and Waste Management, the Future. Atlantic Conference**. 1993a.

_____. Microorganismes et typicité "cidre". **Pomme**. n. 31, p. 16-19, 1993b.

LIMA , J. R. *et al.* Caracterização sensorial de amêndoas de castanha de caju fritas e salgadas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.19, n.1, p. 123-126, 1999.

LLAURADÓ, J.; ROZÈS, N.; BOBET, R.; MAS, A.; CONSTANTÍ, M. Low temperature alcoholic fermentation in high sugar concentration grape musts. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 1, p. 268-272, 2002.

LUZ JR, L. F. L. **Modelagem e simulação de coluna multicomponentes em batelada**, 1993. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Faculdade de Engenharia química, Universidade de Campinas.

_____. **Desenvolvimento de técnicas para montagem de um sistema especialista aplicado à engenharia de separações**, 2001. Tese (Doutorado em

Engenharia Química) Faculdade de Engenharia Química, Universidade de Campinas.

LONA, A.A. **Vinhos – Degustação, Elaboração e Serviço**. Porto Alegre : Age. 1996. 151p.

LYNEN, F. The role of biotin-dependent carboxylations in biosynthetic reactions. **The Biochemical Journal**, London, v. 102, p. 381-400, 1967.

MACEDO, G. A.; PASTORE, G. M. Lipases microbianas na produção de ésteres formadores de aroma. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 115-119. maio – ago, 1997.

MAFART, P. Souche de levure de fermentation et flaveur des boissons alcoolisées. **Bios**. v. 20, n.3, mar. 1989.

_____. Influence de la flore de fermentation sur la flaveur des cidres et sélection des souches. **Bios**. V. 17, n. 4, avril 1986.

MALLOUCHOS, A.; KOMAITIS, M.; KOUTINAS, A.; KANELAKI, M. Wine fermentation by immobilized and free cells at different temperatures. Effect of immobilization and temperature on volatile by-products. **Food Chemistry**, v.1, p. 109-113, jan.2003.

MANGAS, J. J.; CABRANES, C.; RODRIGUEZ, R.; FERNANDEZ, N., *et al.* Influencia de la clarificación prefermentativa en la fermentación de mosto de manzana extraído en prensa continua de bandas. **Alimentaria**. n. 277, p. 77-81, 1996.

MARGALITH, P. ; SCHWARTZ, Y. Flavour and microorganisms. **Advances in Applied Microbiology**, v. 12, p. 35-88, 1970.

MARGHERI, G. ; VERSINI, G. ; GIANOTTIL, P. ; PELLEGRINI, R. Fattori di qualità dei vini bianchi giovani : influenza dell azoto assimilabile dei mosti e dei componenti aromatici. **Soc. Ital. Scienza Alim**, v. 13, p. 401-412, 1984.

MARGHERI, G. ; VERSINI, G. ; PELLEGRINI, R. ; TONON, D. L'azoto assimilabile e la tiamina in fermentazione, loro importanza qualitativa di qualità dei vini. **Vini d'Italia**. v. 3, p. 71-86. 1986.

MEDINA, I. ; MARTÍNEZ, J. L. Dealcoholisation of cider by supercritical extraction with carbon dioxide. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 68, p. 14-18,1997.

MEILGAARD, M. ; CIVILLE, G. V. ; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**, 3 ed. Chicago : CRC Press, 1999. 387p.

MÈNORET, Y. ; HUBERT, C. ; KOHLER, D. Nouvelles boissons a teneur reduite en alcool. **Comptes Rendues de l'Academie d'Agriculture de France**. n. 5, p. 101-110 ,1990.

MERMELSTEIN, N. H. Removing alcohol from wine. **Food Technology**, Chicago, v. 54. n. 11, p. 89-92, nov. 2000.

MICHNICK, S.; SALMON, J.M. Glycerol production from sugars with phosphoglycerate mutase-deficient *Saccharomyces cerevisiae* partially resistant to glucose repression. **Journal of Industrial Microbiology**, v.13, p. 17-23,1994.

MONK, P. R. Effect of nitrogen and vitamin supplements on yeast growth rate of fermentation of Rhine Riesling grape juice. **Food Technology Australia**. v. 34, n. 7, p. 328-332, 1982.

MONK, P. R.; COSTELLO, P. J. Effect of ammonium phosphate and vitamin mixtures on yeast growth in preserved grape juice. **Food Technology in Australia**. Melbourne, v. 36, n. 1, p. 25-28, 1984.

MONTEIRO, C. L. B. **Técnicas de Avaliação Sensorial**. 2ed. Curitiba : Universidade Federal do Paraná, Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos , 1984.

MURRAY, J. M.; DELAHUNTY, C. M.; BAXTER, I. A. Descriptive sensory analysis: past, present and future. **Food Research International**, v. 34, p. 461 – 471, 2001.

NACM - NATIONAL ASSOCIATION OF CIDERMAKERS -. **Code of practice for the production of cider and perry**. London, 1998.

NYKÄNEN, L.; SUOMALAINEN,H. **Aroma of beer, wine and distilled alcoholic beverages**. Boston: D. Reidel Publishing Company, 1983. 413p.

NYKÄNEN, L.; NYKÄNEN, I.; SUOMALAINEN,H. Distribution of esters produced during sugar fermentation between the yeast cell and the medium. **Journal of the Institut of Brewing**, London, v.83, p.32-34, jan.-feb. 1977.

NOGUEIRA, A. **Inovações Tecnológicas no Processamento da sidra. Agroindústria da Maçã**. Ponta Grossa, 1998. 58 f. Monografia. (Trabalho de Conclusão de Curso – Agronomia). Departamento de Zootecnia e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa.

_____. **Tecnologia de processamento sidrícola. Efeito do oxigênio e do nitrogênio na fermentação da sidra**. Curitiba, 2003. 190 p. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos Agroindustriais) Universidade Federal do Paraná.

NORTHCOTE, D.H. The cell walls of higher plants: their composition structure and growth. **Biological Reviews**, n.35, p.53-102, 1958.

OP & P Product Research Sensitools Versão 2.3. Utrecht: **PO & P Product Research** 1995 – 1998. Conjunto de programas I Cd room.

OUGH, C. S.; LIDER, L. A.; COOK, J. A. Rootstock-scion interactions concerning wine making. II Wine compositional and sensory changes attributed to rootstock and

fertilizer level differences. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 19, n. 4, p. 254-265, 1968.

OUGH, C. S.; BELL, A. A. Effects of nitrogen fertilization of grapevines on amino acids metabolism and higher alcohol formation during grape juice fermentation. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 31, n. 2, p.122-123, 1980.

OUGH, C. S.; AMERINE, M. A. **Methods for analyses of musts and wines**. 2nd ed. John Wiley & Sons, USA,1988. 377p.

PAGANINI, C.; NOGUEIRA, A. ; DENARDI, F.; WOSIACKI, G. Aptidão industrial de seis cultivares de maçãs (safra 2001/2002), 2004,no prelo.

PASCAL BIOTECH. **La nutrizione dei lieviti e la qualità dei vini**. Boletim Técnico 1999.

PÉREZ, R. ; SALVADOR. M. D. ; MELERO, R. ; NADAL, M.I. ; GASQUE, F. Desalcoholización de vino mediante destilación en columna. Ensayos previos. **Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos**, v.29, n.1, p. 124-130,1989.

PIAZZON, J. V. **Queijo tipo minas frescal com derivado de soja : características sensoriais**. Londrina, 2003. Dissertação. (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos, Universidade Estadual de Londrina.

PICKERING, G. J. ; HEATHERBELL, D. A.; BARNES, M. F. Optimising glucose conversion in the production of reduced alcohol wines from glucose oxidase treated musts. **Food Research International**, v. 31, p. 685-692, 1999.

PICKERING, G. J. Low- and reduced-alcohol wine. A review. **Journal of Wine Research**. v.11, n.2, p. 129-144, 2000.

PIRES, L. **Enciclopédia de vinhos**. Rio de Janeiro : Record, 1993. p. 27-33.

POLLARD, A. ; KIESER, M. E. ; STEVENS, P. M. ; TUCKNOTT, O. G. Fusels oils an ciders perries. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. London, v.16, p. 384-389, 1956.

POLLARD, A.; KIESER, M. E.; BEECH, F. W. Factors influencing the flavour of cider: The effect of fermentation treatments on fusel oil production. **Journal of Applied Bacteriology**, v.29, p. 253-259, 1966.

PRAUSNITZ, J.M.; REID, R.C.; POLING, B. E. **The properties of gases & liquids**, 4nd ed. Mc Graw-Hill, USA,1984.

PYLE, L. Processed foods with natural flavour : the use of novel recovery technology. **Nutrition and Food Science**, v. 2, p. 12-14, 1994.

RANKINE, B. Formation of higher alcohols by wine yeast and relationship to taste threshold. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.18, p. 583-589, 1967.

RIBERÉAU-GAYON, J.; PEYNAUD, E. **Traité d'Oenologie I. Maturation du raisin, Fermentation Alcoolique, Vinification**. Paris : Dunot, 1961.

RIBERÉAU-GAYON, J. **Vitis**, v. 12, p.144, 1973.

RIBERÉAU-GAYON, J. ; LAFOND-LAFOURCAD, S. ; BERTRAND, A. Le débourage des moûts de vendage blanche. **Connaissance de la Vigne et du Vin**, v. 9, n. 2, p. 117-139,1975.

RIBERÉAU-GAYON, P. D. D.; DONÈCHE, B.; LONVAUD, A. **Traité D'Oenologie. Microbiologie du Vin - Vinifications**. Paris. Dunod, 1998. 617p.

RICHARD, H.; MULTON, J. L. **Les arômes alimentaires**. Collection Sciences & Techniques agro-alimentaires. Tec&Doc-Lavoisier, Paris, 1992. 436p.

ROBIN, P.; DE LA TORRE, M. **Le cidre, la pomme, le calvados**. Paris: Editions du Papyrus, 1988. 192 p.

ROSIER, J. P. **Interpretation des caracteres analytiques et sensoriels de vins blancs de la region des graves en fonction de certains facteurs culturaux de la vigne**. Bordeaux ,1992. 252 f. Thèse (Doctorat en Oenologie-Ampelologie). Université de Bordeaux II.

_____. Novas perspectivas das exigências nutricionais das leveduras. Informe técnico - Epagri – Videira, 2001.

SALMON, J. C. **Application de la chromatographie liquide à haute pression pour le dosage des substances azotées présentes dans le vin**. Bordeaux, 1985. DEA (DEA – Oenologie). Université de Bordeaux II.

SAS Institute, Versão 6.12. Cary: The SAS Institute, 1989-1996.

SCHOBINGER, U. ; DÜRR, p. ; WALDVOGEL,R. Die Entalkoholisierung von Wein und Fruchweineine Möglichkeit zur Herstellung von zuckerreduzierten Fruchsaftgetränken. **Schweiz. Obst.-Weinbau**, v. 122, p. 98-110,1986.

SCHOBINGER, U. **Frucht und Gemüsesäfte**. Stuttgart: Ulmer Verlag, 1987. 626 p.

SCOTT, J. A.; HUXTABLE, S. M. Removal of alcohol from beverages. **Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement**, v. 79, p. 19S-28S, 1995.

SCUSSEL, V. M. **Micotoxinas em alimentos**. Florianópolis :Insular Ltda, 1998. 144p.

SENTHESHANMUGANATHAN, S. ; ELDSSEN, S. R. The mechanism of the formation of tyrosol by *S. Cerevisiae*. **The Biochemical Journal**. London, v. 69, p. 210-218, 1958.

SILVA, M. A. P. ; DAMÁSIO, M. H. **Curso** : Análise Sensorial Descritiva. Campinas : Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia « André Tosello », 1994a. 59p.

_____. **Curso** : Análise Sensorial de Alimentos. Campinas : Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia « André Tosello », 1994b. 119p.

SILVA, N. C. C. *et al.* Desalcoholização de vinho por destilação a vácuo em batelada. **Anais do VIII Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Curitiba, 2003.

SIMPSON, S. J.; PIGGOT, J. R. ; WILLIAMS, S. A. R. Sensory analysis. **International Journal of Food science and Technology**. v. 33, n. 1, p. 7-18, 1998.

SMOCK, R. M. ; NEUBERT, A. M. **Apples and apples products**. New York : Interscience Publishers, 1950. 486p.

SOARES, M. **Biossíntese de metabólitos voláteis frutais por *Pachyolen tannophilus* e *Ceratocystis fimbriata* pela fermentação no estado sólido da casca de café**. 1998. (Dissertação) Mestrado em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná.

SOMOGGYI, M. Notes on sugar determination. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 195, n. 1, p. 19-23, 1952.

STEIN, W. Dealcoholization of beer. **Technical Quaterly of the Masters Brewer's Association of the Americas**, v. 30, p. 54 – 57, 1993.

STONE, H. *et al.* Sensory Evaluation by quantitative descriptive analysis. **Food Technology**, Chicago, v. 28, n. 11, p. 24 – 34, Nov. 1974.

STONE; H. ; SIDEL, J. L. **Sensory Evaluation Practices**. London : Academic Press, 1985, 338p.

_____. **Sensory Evaluation Practices**. 2 ed. San Diego : Academic Press, 1993. 295 p.

_____. Quantitative Descriptive Analyses : developments, applications, and the future. **Food Technology**, v. 52, n. 8, p. 54 – 57, Aug. 1998.

SUOMALAINEN, H. Yeast esterases and aroma esters in alcoholic beverages. **Journal of the Institut of Brewing**, London, v.87, p. 296-300, 1981.

SYKES, S. J. ; CASIMIR, D. J. ; PRINCE, R. G. H. Recent advances in spinning cone column technology. **Food Australia**. V. 44, p. 462-464, 1992.

TEDESCO, M. J. Análises de solo, plantas e outros materiais. **Boletim Técnico-Faculdade de Agronomia – UFRGS**, n.5, 1995.

THUMM, H.J. **Low alcohol wine**. Australian Patent 66 366, 24.4, in : SCHOBINGER, U. ;DÜRR, P. ; WALDVOGEL, R. Die Entalkoholisierung von Wein und fruchtweinen

(eine neue Möglichkeit zur Herstellung von zuckerreduzierten fruchtsaftgetränken). Schweizerische fuer Zeitschrift Obst- und Weinbau, v. 122, p. 98 – 110, 1975.

TIPOS de Vinhos. Disponível em : <<http://www.sairrao.com>> acesso em : 09 fev. 2003.

TORRES–ALEGRE,V. M. **Formation des acides gras et autres produits secondaires au cours de la vinification, interpretations statistiques des résultats.** Bordeaux, 1982. Thèse (Docteur – Ingénieur), Université de Bordeaux II.

TROTHER, R. **Verfahren zur entalkoholisierung oder alkoholreduzierung von weinen und fruchtweinen.** German Democratic Republic Patent DD 283 153, 1990.

VAN ROOYEN, P. C.; TROMP, A. The effect of fermentation time (as induced by fermentation and must conditions) on the chemical profile and quality of a Chenin blanc wine. **South African Journal of Enology and Viticulture.** v. n. 3, p. 75-80, 1982.

VILLETIAZ, J.–C. **Method for production of a low alcoholic wine agent for performance of the method.** European Patent EP 0 194 043 A1,1986.

_____. A new method for the production of low alcohol wines and the better balanced wines. In: LEE, T. **Proceedings of Sixth Australian Wine Industry Technical Conference**, 14-17 july, Adelaide, 1987.

VOS, P. J.; GRAY, R. S. The origin and control of hydrogen sulfide during fermentation of grape must. **American Journal of Enology and Viticulture.** Davis, v. 30, n. 3, p. 187-197, 1979.

WALKER, G. M. **Yeast physiology and biotechnology.** Scotland: John Wiley & Sons, 1998. p. 350.

WELSH, F. W.; MURRAY, W. D. ; WILLIAMS, R. E. Microbiological and enzymatic production of flavour and fragrance chemicals. **Critical Reviews in Biotechnology.** v. 9, n. 2, p. 105-169, 1989.

WILLIAMS, A. A. Flavour research and the cider industry. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 80, p.455-470, 1974a.

_____. Flavour effects of ethanol in alcoholic beverages. **The flavour industry**, v. 3, p. 604-607, 1974b.

WILLIAMS , A. A. ; TUCKNOTT, O. G. Volatile constituentes of cider. I. Draught dry cider blend. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 22, p.264-269, 1971.

_____.The volatile aroma components of fermented ciders: minor neutral components from the fermentation of Sweet Coppin apple juice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 29, p. 381 -397,1978.

WILLIAMS , A. A. ; MAY, H. V.; TUCKNOTT, O. G. Examination of fermented cider volatiles following concentration on the porous polymer POROPAK O. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 84, p. 97-100, 1978.

WINES. Disponível em : <<http://www.epicurious.com>> acesso em : 04 abr. 2003.

WOSIACKI, G.; KAMIKOGA, A. T. M. ; SATAKE, E. Y. ; OLIVEIRA CESAR, E. Características de qualidade de sucos despectinizados de maçãs (safra 1988/89) **Semina**. Londrina, v. 13, n. 1, p. 7-14, mar., 1992.

WOSIACKI, G.; CHERUBIM, R. A.; HILGENBERG, C. Characterization of the apple juice of some new varieties growing in Brazil. **Fruit Processing**. Schönborn, v. 6, n. 8, p. 306-310, 1996.

WOSIACKI, G.; CHERUBIN, R. A.; SANTOS, D. S. Cider processing in Brazil. **Fruit Processing**. Schönborn, v. 7, n. 7, p. 242-249, 1997.

WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A.; SILVA, N. C. C. Brazilian apple production – a few years later. **Fruit Processing**. Schönborn, v. 10, n. 12, 2000.

WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A.. Apple varieties growing in subtropical areas. The situation in Paraná - Brazil. **Fruit Processing**. v. 5, n. 6, p. 177-182, 2001.

WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A.; SILVA, N. C. C.; DENARDI, F.; CAMILO, A P. Apple varieties growing in subtropical áreas - the situation in Santa Catarina - Brazil. **Fruit Processing**. Oberhonnerfeld, v. 12, n. 1, p.19-28,2002.

WOSIACKI, G. **Potencial tecnológico de variedades de maçãs produzidas no Brasil em três safras consecutivas**. Ponta grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa. 1º semestre 2004. 159p. (Fundação Araucária) Programa de Apoio a Núcleo de Excelência. Chamada de projetos 04/ 2003.

WUCHERPFENNIG, K. ; VON MILLIES, K. D. ; CHRISTMANN, M. Herstellung entalkoholisierter weine unter besonderer berücksichtigung des dialyseverfahrens. **Die Weinwirtschaft Technik**, V.122. P. 346 – 354,1986.

APÊNDICE

APÊNDICE A - Análise de variância para cor amarela das amostras de sidra com álcool e sidra com teor diminuído em álcool, submetidas à análise descritiva.

Fonte de variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado médio	Valor de F	P
Tratamentos	1	43,11	43,11	17,02	0,0002
Julgador	8	114,95	14,36	5,67	0,0001
Tratamentos x Julgador	8	25,3	3,16	1,25	0,3001
Resíduo	36	91,17	2,53		
Total	53	274,54			

APÊNDICE B - Análise de variância para aroma alcoólico das amostras de sidra com álcool e sidra com teor diminuído em álcool, submetidas à análise descritiva.

Fonte de variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado médio	Valor de F	P
Tratamentos	1	28,89	28,89	13,35	0,0008
Julgador	8	126,86	15,85	7,32	0,0001
Tratamentos x Julgador	8	30,55	3,81	1,76	0,117
Resíduo	36	77,94	2,16		
Total	53	264,25			

APÊNDICE C - Análise de variância para nota frutal das amostras de sidra com álcool e sidra com teor diminuído em álcool, submetidas à análise descritiva.

Fonte de variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado médio	Valor de F	P
Tratamentos	1	0,7233	0,72	0,41	0,5279
Julgador	8	79,37	9,92	5,57	0,0001
Tratamentos x Julgador	8	15,26	1,9	1,07	0,4041
Resíduo	36	64,1	1,78		
Total	53	159,46			

APÊNDICE D - Análise de variância para aroma fermentado das amostras de sidra com álcool e sidra com teor diminuído em álcool, submetidas à análise descritiva.

Fonte de variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado médio	Valor de F	P
Tratamentos	1	0,08	0,08	0,04	0,84
Julgador	8	79,65	9,95	4,81	0,0004
Tratamentos x Julgador	8	12,97	1,62	0,78	0,6202
Resíduo	36	74,55	2,07		
Total	53	167,55			

APÊNDICE E - Análise de variância para aroma “cozido” das amostras de sidra com álcool e sidra com teor diminuído em álcool, submetidas à análise descritiva.

Fonte de variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado médio	Valor de F	P
Tratamentos	1	0,08	0,08	0,04	0,84
Julgador	8	79,65	9,95	4,81	0,0004
Tratamentos x Julgador	8	12,97	1,62	0,78	0,6202
Resíduo	36	74,55	2,07		
Total	53	167,55			

APÊNDICE F - Análise de variância para gosto doce das amostras de sidra com álcool e sidra com teor diminuído em álcool, submetidas à análise descritiva.

Fonte de variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado médio	Valor de F	P
Tratamentos	1	0,0037	0,0037	0,01	0,9254
Julgador	8	12,43	1,55	3,69	0,0031
Tratamentos x Julgador	8	3,76	0,47	1,12	0,3744
Resíduo	36	15,16	0,42		
Total	53	31,36			

APÊNDICE G - Análise de variância para gosto ácido das amostras de sidra com álcool e sidra com teor diminuído em álcool, submetidas à análise descritiva.

Fonte de variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado médio	Valor de F	P
Tratamentos	1	0,59	0,59	0,19	0,6633
Julgador	8	114,07	14,25	4,65	0,0006
Tratamentos x Julgador	8	19,72	2,46	0,8	0,6036
Resíduo	36	110,46	3,06		
Total	53	244,86			

APÊNDICE H - Análise de variância para gosto amargo das amostras de sidra com álcool e sidra com teor diminuído em álcool, submetidas à análise descritiva.

Fonte de variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado médio	Valor de F	P
Tratamentos	1	77,28	77,28	23,03	0,0001
Julgador	8	87,65	10,95	3,27	0,0067
Tratamentos x Julgador	8	40,13	5,01	1,5	0,1934
Resíduo	36	120,78	3,35		
Total	53	325,85			