

Desvendando a composição da sidra brasileira por isótopos estáveis e análises físico-químicas

RESUMO

A sidra brasileira vem perdendo mercado a cada ano em função da sua falta de qualidade e da concorrência com outras bebidas frisanter e espumantes. Sidras comerciais e elaboradas em laboratório (experimentais) foram avaliadas através de análises físico-químicas e isotópica de ^{13}C . Os parâmetros físico-químicos e instrumentais apresentaram diferenças entre os produtos ($p < 0,05$), separando as amostras varietais das comerciais pela análise de componentes principais (PCA). A análise isotópica de ^{13}C nas sidras comerciais foi eficiente para determinar que 20 a 80% dos açúcares presentes são provenientes de outras fontes, como da cana-de-açúcar. A sidra "A" apresentou a maior adição de açúcar de outras fontes, no entanto, não apresentou os maiores teores de açúcar total e extrato seco total, indicando que nesta sidra ocorreu maior adição de água (diluição). Desta forma, o teor alcoólico final, possivelmente, também foi corrigido o que não é permitido pela legislação brasileira. A comparação analítica e isotópica de ^{13}C entre sidras experimentais e comerciais foi eficiente na detecção de compostos adicionados e na identificação de diluição da sidra o que compromete sua qualidade sensorial.

PALAVRAS-CHAVE: sidra, composição química, análise de carbono ^{13}C , qualidade.

Aline Albertialinealberti@gmail.com

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa-PR, Brasil

Acácio Antônio Ferreira Zielinskiaczielinski@gmail.com

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa-PR, Brasil

Débora Gonçalves Bortolinidebortolini@gmail.com

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa-PR, Brasil

Lais Benvenutilabenvenuti@gmail.com

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa-PR, Brasil

Evandro Tadeu da Silvaevandro@ibb.unesp.br

Departamento de Física e Biofísica – Centro de Isótopos Estáveis Ambientais, Instituto de Biociências da UNESP, Rua Prof. Dr. Antônio Celso Wagner Zanin, 250, CEP 18618-689, Botucatu, SP, Brasil.

Carlos Ducattiducatti@ibb.unesp.br

Departamento de Física e Biofísica – Centro de Isótopos Estáveis Ambientais, Instituto de Biociências da UNESP, Rua Prof. Dr. Antônio Celso Wagner Zanin, 250, CEP 18618-689, Botucatu, SP, Brasil.

Alessandro Nogueiraalessandronog@yahoo.com.br

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa-PR, Brasil

INTRODUÇÃO

A sidra, bebida obtida da fermentação alcoólica total ou parcial dos açúcares fermentescíveis de mostos de maçãs, pode ser consumida carbonatada ou não e apresentar teor alcoólico entre 2,0 e 8,0 °GL (GOMES *et al.*, 2014; SYMONEAUX *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2015).

No Brasil, a sidra comercializada é classificada como doce ou suave (teor de açúcar ≥ 20 g/L), uma vez que é permitida a adição de até 120 g/L de açúcar ao produto final (BRASIL, 2008). Na Alemanha, a legislação permite a adição de açúcares em até 10 g/L. Na França, é permitida apenas a adição do suco de maçã concentrado, como fonte de açúcares, e classifica a bebida quanto ao teor de açúcar em seca (< 28 g/L), semi-seca (28-42 g/L) e doce (> 35 g/L). O teor alcoólico da sidra na Alemanha e na França é de no mínimo 5% e 4% (v/v), respectivamente, e não há valor máximo estipulado. Em contrapartida, no Brasil e na Inglaterra, a quantidade máxima permitida é de 8 % (v/v) (NOGUEIRA & WOSIACKI, 2012).

A legislação brasileira (Decreto nº 6.871 de 04 de junho de 2009, que regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994) permite adição de água mediante o uso de uma solução contendo açúcar, ativadores de fermentação como sais de amônio, vitaminas, ergosterol, ácidos graxos insaturados e ácido cítrico com o objetivo de aumentar o rendimento de sidra (BRASIL, 1994; BRASIL, 2009). A Resolução CNS/MS nº 04, de 24 de novembro de 1988 determina quais produtos podem ser utilizados na fabricação da sidra como o gás carbônico industrial, os conservantes ácido sórbico (0,05%) e dióxido de enxofre (0,035%) e os acidulantes ácido cítrico e ácido láctico (quantidade necessária para obter o resultado esperado) (BRASIL, 1988).

Para controle e inspeção de bebidas a metodologia da razão isotópica do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) é especialmente útil, uma vez que se baseia nas misturas dos carbonos isótopos produzidos através das principais vias fotossintéticas de fixação do gás carbônico (CO_2) atmosférico – C_3 e C_4 . As plantas C_3 , reduzem gás carbônico a duas moléculas de ácido-3-fosfoglicerato, o qual possui três átomos de carbono em sua molécula, e discrimina o ^{13}C resultando em valores de abundância natural de isótopos estáveis, dado em sigma por mil (δ ‰), relativamente baixos, com média de -28‰. As plantas C_4 , no entanto, formam o ácido aspártico ou ácido málico a partir do CO_2 absorvido, estes produtos apresentam moléculas com quatro átomos de carbono e não discrimina o ^{13}C originando valores de δ ‰ mais altos, com média de -13‰ (BUTTON *et al.*, 1993; OLIVEIRA *et al.*, 2002). A análise de isótopos estáveis tem sido utilizada para alegar autenticidade de bebidas à base de frutas, como suco de laranja, néctar de uva, suco de caju, néctar de pêssego e néctar de maçã (QUEIROZ *et al.*, 2008; FIGUEIRA *et al.*, 2010; FIGUEIRA *et al.*, 2011; NOGUEIRA *et al.*, 2011; FIGUEIRA, VENTURINI FILHO e DUCATTI, 2013) e bebidas fermentadas como cervejas tipo Pilsen (SLEIMAN *et al.*, 2008), espumantes (MARTINELLI *et al.*, 2003) e vinho (MONAKHOVA *et al.*, 2014). Estudos recentes vêm combinando a análise isotópica com a multivariada possibilitando uma melhor visualização dos resultados. Lee *et al.* (2011) conseguiram determinar a localização geográfica da origem de vinhos por meio da combinação dessas análises. Da mesma forma, Mimmo *et al.* (2015) diferenciaram cultivares de maçã.

A produção e consumo de sidra tem aumentado em vários países (GOMES *et al.*, 2014), porém no Brasil vem diminuindo em função da falta de qualidade e de acompanhamento das tendências de mercado (CARVALHO *et al.*, 2010). Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar os parâmetros físico-químicos e de razão isotópica do carbono-13 entre sidras comerciais e experimentais, a fim de verificar se o fermentado de maçã foi elaborado com suco puro ou se foram adicionados açúcares provenientes de plantas com outra via fotossintética, o que influenciará na qualidade e no preço do produto final.

MATERIAIS E MÉTODOS

MATERIAIS

As amostras de maçãs das cultivares Fuji, Gala e Granny Smith (20 kg de cada), bem como as quatro (04) amostras de sidras (5 garrafas de cada marca), foram adquiridas no comércio local, da cidade de Ponta Grossa-PR. As sidras analisadas receberam a codificação de 'A', 'B', 'C' e 'D'. Os reativos químicos utilizados foram de pureza pró-análise.

MÉTODOS

Processamento do mosto de maçã:

As frutas foram selecionadas, lavadas e trituradas em microprocessador (Processador Metvisa, Tipo MPA). A massa obtida foi acondicionada em sacos de tela de polietileno (diâmetro do fio 33 BWG, Vonder), que sobrepostos foram submetidos a uma pressão de 3,0 kgf/cm² (Prensa hidráulica Eureka, Hoppe Ind. Ltda, Brasil) durante três (03) minutos. O mosto obtido foi despectinizado mediante o uso de enzimas (Pectinex 3XL, Novozymes Latino-Americana da LNF, Bento Gonçalves - RS), na concentração de 3,0 mL/hL e mantido a 40°C durante 60 minutos para a reação de despectinização e, após sedimentação a frio (7-10°C), o sobrenadante foi trasfegado e engarrafado (ALBERTI *et al.*, 2011).

Processamento das sidras experimentais.

O mosto despectinizado de cada cultivar foi transferido para seis (06) fermentadores de 500 mL (duplicatas) esterilizados e munidos de batoque. O inóculo consistiu de levedura *Saccharomyces cerevisiae* Bouquet (Fermol Bouquet, ref. PB 2004, AEB Group, Itália) na concentração de 20 g/hL (2,0x10⁶ células/mL). A fermentação alcoólica foi conduzida em temperatura ambiente (18-24°C) até exaustão dos açúcares fermentescíveis (< 2,0 g/L), que ocorreu com aproximadamente doze (12) dias.

Análises físico-químicas e instrumentais.

A análise de açúcares redutores totais (ART) foi feita pelo método colorimétrico de Somogyi-Nelson (TANNER & BRUNNER, 1985). A acidez total titulável, acidez volátil, anidrido sulfuroso total, teor de umidade e cinzas totais foram determinados mediante método oficial do IAL (2008). O pH foi determinado em pHmetro digital. O nitrogênio total foi determinado segundo Baron *et al.* (1977). A determinação da intensidade da cor foi feita pela somatória das absorvâncias a 440 e 520 nm (cubeta quadrada, 10mm em vidro óptico) em espectrofotômetro (Femto, modelo 435, Brasil), sendo que a primeira corresponde à oxidação dos polifenóis e a segunda, aos pigmentos antocianínicos da fruta (TANNER & BRUNNER, 1985). Os compostos fenólicos foram analisados colorimetricamente com o método do reagente de Folin-Ciocalteau (Laborclin, ref. 610359, Brasil) e os resultados foram expressos em mg/L de catequina (IAL, 2008). O teor de etanol foi determinado por ebuliometria em % (v/v).

Análises isotópicas do ^{13}C .

O método para o preparo da amostra descrita em Brasil (2001), aceita pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) como método oficial de análise, consiste em destilar lentamente 1,5 mL da amostra sob vácuo a 10^{-3} mbar e ação criogênica do nitrogênio líquido (-196°C). Em seguida o destilado passa por uma combustão a 900°C , no qual, todo o carbono da amostra é convertido em dióxido de carbono (DUCATTI *et al.*, 2002; DUCATTI *et al.*, 2015) o qual é analisado para mensurar a razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ por espectrometria de massa.

A diluição isotópica entre duas fontes isotopicamente distintas entre si permite mensurar quantitativamente o percentual de pureza do produto através da equação (1), onde, a simbologia significa: $\delta\%_{\text{produto}}$: enriquecimento relativo em δ por mil da razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ do produto. $\delta\%_{\text{C}_3}$: enriquecimento relativo em por mil do padrão puro de C_3 (fermentado de maçã). $\delta\%_{\text{C}_4}$: enriquecimento relativo em por mil do padrão puro de C_4 (álcool de cana de açúcar). A: percentual de pureza do produto analisado (% C_3).

$$A = \left(\frac{\delta\%_{\text{produto}} - \delta\%_{\text{C}_4}}{\delta\%_{\text{C}_3} - \delta\%_{\text{C}_4}} \right) \cdot 100 \quad (1)$$

Para avaliar pequenas diferenças na composição isotópica entre amostra e padrão, as razões isotópicas $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ são determinadas por espectrometria de massas. Para a análise do ^{13}C , a amostra é convertida em CO_2 . Neste equipamento a razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ da amostra é analisada comparativamente contra a razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ do padrão internacional PDB (rocha calcária americana – *Pee Dee Belemnite*), através da equação (2) onde a simbologia expressa: $\delta\%_{\text{PDB}}$ = enriquecimento em δ por mil da razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ da amostra relativa ao padrão internacional PDB. R = razão isotópica ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) da amostra e padrão, respectivamente (FIGUEIRA *et al.*, 2010; NOGUEIRA *et al.*, 2011). O erro nas análises das variações naturais da razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ é inferior ou igual a 0,2% (BRASIL, 2001).

$$\delta\%_{\text{PDB}} = \left[\left(\frac{R_{\text{amostra}}}{R_{\text{padrão}}} \right) - 1 \right] \cdot 10^3 \quad (2)$$

A instrução normativa define o padrão para fermentado de maçã como a mistura proporcional de fermentados de maçãs puros, destilados, das diversas variedades nacionais, sendo: padrão de fermentado de maçã $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$, PDB (maçã) = $(-27,42 \pm 0,02)\text{‰}$; e, padrão de açúcar da cana-de-açúcar: $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$, PDB (açúcar) = $(-11,46 \pm 0,20)\text{‰}$; e a curva padrão: $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$, PDB (maçã, açúcar) = $-11,46 - 0,1596(x)$; $R^2 = 0,99$, na qual (x) reflete o grau de pureza (% C3) da amostra analisada (BRASIL, 2001).

Análises estatísticas.

Os dados foram apresentados como média e desvio padrão (SD). ANOVA fator único foi efetuada sobre os dados, a fim de avaliar a variância dos resultados. A análise estatística foi complementada com o teste de comparação de médias de Fischer (LSD) comparando as médias aos pares apenas se estas tiverem diferenças significativas ($p < 0,05$). Para esses testes, foi utilizado Software Statistica (versão 7.0).

A análise de componentes principais (PCA) foi aplicada para separar as amostras de sidras de acordo com conteúdo de acidez total, acidez volátil, anidrido sulfuroso, açúcar redutor total, carbono, cinzas, cor, fenóis totais, nitrogênio total, pH, teor alcoólico (°GL) e umidade. Primeiramente, uma matriz foi construída composta das amostras ($n = 7$) e as respostas ($n = 12$), num total de 84 pontos. Os resultados obtidos para cada um dos parâmetros foram utilizados como variáveis (colunas) e as sidras foram usadas como amostras individuais (linhas). Um pré-tratamento auto escalado (z-score) dos dados foi conduzido para padronizar a importância significativa de todas as variáveis (ZIELINSKI *et al.*, 2014a). Assim, a análise de PCA foi baseada na correlação linear e as variâncias foram computadas como a soma dos quadrados/($n-1$). Por fim, um gráfico bidimensional foi construído para projeção de todas as respostas e das amostras (ZIELINSKI *et al.*, 2014b). Todos os procedimentos foram realizados usando Matlab v.7.5 (MathWorks Inc., Natick, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As quatro amostras de sidras comerciais apresentaram adição de açúcar acima de 55 g/L sendo que as concentrações foram significativamente diferentes ($p < 0,05$). Nogueira *et al.* (2003) encontraram um valor semelhante, em média $67,9 \pm 27,6$ g/L em dez (10) sidras comerciais. Estes autores observaram que quanto mais açúcar na bebida, melhor foi à aceitação sensorial, indicando a preferência do consumidor por bebidas doces. As sidras experimentais (sem adição de açúcares) não apresentaram diferenças significativas entre si para açúcares redutores totais (Tabela 1).

Nas três sidras experimentais, o teor de extrato seco esteve entre 1,0 a 1,4 g/100mL após aproximadamente doze (12) dias de fermentação. Estes valores representam menos de 50% do extrato seco encontrado em vinhos finos secos, o que pode influenciar diretamente na qualidade do corpo da bebida (RIZZON & MIELE, 2002). Em contrapartida, o teor de extrato seco das sidras comerciais

apresenta valores mais elevados, entre 6,01 e 10,03 g/100mL, devido a adição de compostos, como a sacarose (Tabela 1).

O teor de etanol nas sidras varietais apresentou valor médio de 6,16 °GL, significativamente maior ($p < 0,05$) que o teor das bebidas comerciais, com média de 5,20°GL. No entanto, todas as sidras analisadas podem ser caracterizadas como bebidas de grau alcoólico abaixo dos vinhos (12-14°GL), porém acima da maioria dos tipos de cervejas (3,0-5,0°GL) (RIBEREAU-GAYON *et al.*, 1998; DRAGONE & SILVA, 2010). Todas as amostras estão em conformidade com a legislação brasileira a qual estabelece limite mínimo de 4,0 e máximo de 8,0°GL (BRASIL, 1988).

A acidez total apresentou diferença significativa entre as amostras analisadas ($p < 0,05$). A sidra experimental elaborada com a maçã Granny Smith apresentou acidez total com valor 69,7% superior às demais amostras. Em contrapartida, as sidras de maçãs Gala e Fuji apresentaram os valores mais baixos de acidez total, próximos aos valores determinados por Santos *et al.* (2015), para a cultivar Gala (0,353 g/100mL), e por Nogueira *et al.* (2005) para sidras elaboradas com maçã Fuji (0,331 g/100mL).

Nas sidras comerciais, a acidez total está equilibrada e com valor médio acima dos fermentados varietais, o que pode indicar uma correção com ácidos orgânicos permitidos pela legislação (BRASIL 1988). A adição de açúcar e a acidez pronunciada vêm de encontro à bebidas de frutas não alcoólicas carbonatadas, facilitando a aceitação pelo consumidor (CARVALHO *et al.*, 2010)

A acidez volátil baixa atesta que não ocorreu contaminação com oxigênio durante o processo de fermentação das sidras experimentais. Entretanto, a sidra B se destaca por possuir acidez volátil 43% acima das demais sidras comerciais assemelhando às sidras experimentais. Esse valor elevado (visto que há uma possível diluição do produto, e deveria ser menor) pode estar relacionado a qualidade da matéria prima utilizada (frutas com defeitos fitopatológicos aparente) e principalmente a contaminação com bactérias acéticas. O teor de acidez total para essa amostra não foi superior às demais, supondo que esta pode ter sido adicionada de ácido para correção dos parâmetros físico-químicos da sidra.

O teor de cinzas totais nas amostras variou significativamente ($p < 0,05$) de 600 a 1999 mg/L, sendo que a sidra 'D' apresentou o maior teor e a sidra 'A' o menor. Enquanto que, os valores encontrados por Nogueira *et al.* (2003) para sidras comerciais brasileiras variaram de 1450 a 4230 mg/L.

Alberti *et al.* (2011) verificaram que entre 51 cultivares analisadas, mais de 90% dos mostos de maçãs foram classificados com elevados teores de nitrogênio (>150 mg/L). Entretanto, quando em concentrações inferiores, a *Saccharomyces cerevisiae* pode utilizar quase todo o nitrogênio assimilável e manter um residual não assimilável de 20 a 30 mg/L no produto final (SANTOS *et al.*, 2015). Comparado a estes valores, o teor de nitrogênio nas sidras elaboradas em laboratório foi superior (>35 mg/L), porém nas sidras comerciais este teor foi inferior (entre 10,39 e 16,68 mg/L), com exceção da sidra 'D', que apresentou 32,16 mg/L de nitrogênio residual. Estes valores baixos podem ser um indício de diluição do produto.

Na década de 70 a sidra foi estilizada para ficar semelhante ao champanha, desta maneira a cor natural não era interessante e foi eliminada do produto (CARVALHO *et al.*, 2011) através da adição de dióxido de enxofre que inibe a reação de escurecimento enzimático, bloqueando a formação de cor, além de agir como um bacteriostático (RIBEREAU-GAYON *et al.*, 1998, DEVIC *et al.*, 2010). A concentração de anidrido sulfuroso em sidras comerciais variou de 44,8 a 138,0mg/L (Tabela 1), porém os valores estavam abaixo do máximo (350 mg/L) estabelecido pela legislação brasileira (BRASIL, 1988). Como consequência dessa adição, pode ser notada pouca presença de cor nas bebidas comerciais em relação às variedades. Esta tonalidade ficou em média 0,087 enquanto que nas sidras experimentais, a análise de cor apresentou um valor médio de 0,272, semelhante à tonalidade da sidra europeia. Os compostos fenólicos das sidras variaram significativamente ($p < 0,05$). Com a adição de sulfito era esperado maior teor de compostos fenólicos nas sidras comerciais, uma vez que esses são preservados com a inibição da reação de escurecimento enzimático. A sidra 'D', com maior teor de sulfito, apresentou maior quantidade compostos fenólicos (323,35 mg/L) entre as sidras comerciais. As sidras comerciais 'A' e 'B' apresentaram teores de 47,06 e 86,27 mg/L, abaixo do valor médio encontrado nas sidras variedades (250,76 mg/L), possivelmente por um efeito de diluição e/ou de clarificação em carvão ativo.

O gráfico do PCA (Figura 1) apresenta a correlação entre os parâmetros físico-químicos e instrumentais das sidras analisadas, explicando 86,79% da variância total das amostras. O PC1, explica 65,61% da variância total dos dados. As amostras localizadas mais à direita do gráfico apresentam maior teor de anidrido sulfuroso e açúcar redutor total. Enquanto que, quanto mais à esquerda, maior teor de acidez volátil, carbono, cinzas, cor, nitrogênio total, pH e umidade. O PC2 explica 21,28% da variância total dos dados e envolve os parâmetros referentes à acidez total e compostos fenólicos totais, sendo que estes teores são mais elevados nas amostras localizadas mais acima no gráfico.

Portanto, analisando as posições onde as sidras foram projetadas no gráfico, as amostras podem ser divididas em dois grupos que se assemelham entre si. O primeiro compreende as sidras experimentais e o segundo, as obtidas no comércio. Dessa forma fica explícita a diferença entre elas. No primeiro grupo, há uma similaridade maior entre sidras obtidas de maçãs Fuji e Gala e estas se assemelham, em menor grau, a sidra de maçã Granny Smith. O segundo grupo indica similaridade maior entre os pares de sidra, 'C' & 'D' e 'A' & 'B'. Nota-se, ainda, que os pares do segundo grupo se assemelham entre si em menor grau.

Foi observado que as sidras comerciais, localizadas mais para a direita no gráfico do PCA, possuem valores abaixo dos parâmetros encontrados nas sidras variedades, exceto para acidez total, açúcares redutores totais e anidrido sulfuroso, indicando que estas podem ter sido diluídas e corrigidas com adição de açúcares, ácidos e sulfito a fim de obter melhor rendimento, atender os padrões estabelecidos pela legislação e/ou a preferência do consumidor por sidras classificadas como doce.

As sidras experimentais apresentaram $\delta^{13}\text{C}$ variando de - 28,61 a - 30,04; semelhante aos valores encontrados por Kelly *et al.* (2003) de -29,2 a -32,2, característicos de plantas de ciclo fotossintético C_3 . Porém, as 4 marcas de sidras analisadas ficaram abaixo de -15,15. Este valor é maior que o encontrado em produtos elaborados apenas com maçãs, característico de produtos com mistura

de açúcares provenientes de plantas do tipo C₃ e C₄ (Tabela 2) (BUTTON *et al.*, 1993; OLIVEIRA *et al.*, 2002).

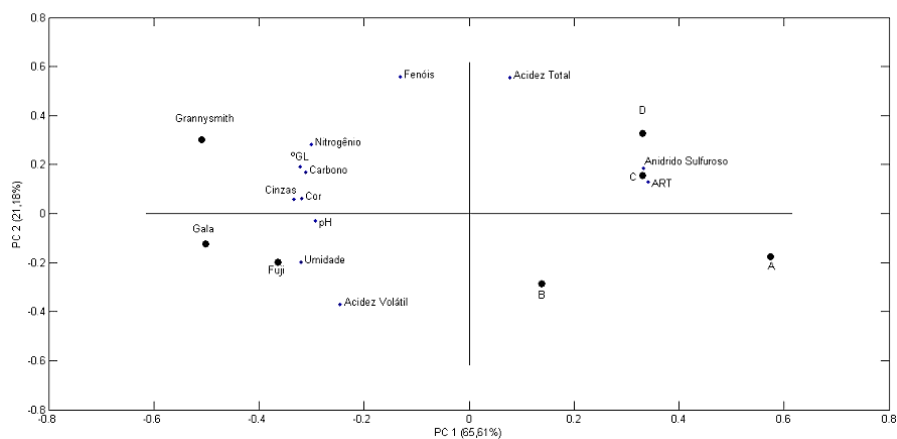


Figura 1 – Análise dos Componentes Principais (PCA) entre as sidras varietais e comerciais.

Na Figura 2 podem ser observados os valores em % de C₃ nos fermentados de maçãs puros e comerciais. Os fermentados puros apresentaram valores próximos de 110 a 118% de C₃ e os fermentados comerciais, de 20 a 80% de C₃. Desta forma, a correção do produto através da adição de açúcar proveniente de outras fontes, como o de cana-de-açúcar (C₄) fica evidente em todas as sidras comerciais avaliadas. As sidras podem ser organizadas em ordem crescente de quantidade de adição de sacarose provenientes de cana-de-açúcar, D < C < B < A.

A sidra 'A' apresentou o menor teor de C₃, indicando que esta teve o maior teor de adição de açúcar, tendo 80% de carbono provenientes de planta C₄, em relação ao total de carbono na sidra, enquanto que a sidra 'D' apresentou o menor teor de adição, aproximadamente 20%. Contudo, os teores de açúcar redutor total, sulfito e grau alcoólico não foram os maiores para a sidra 'A', indicando que esta pode ter sido a mais diluída entre as sidras comerciais, evitando que a adição fosse quantificada por métodos físico-químicos convencionais. Desta forma, as sidras comerciais foram diluídas e corrigidas com açúcar e acidez, prática permitida por legislação, porém os maiores teores de sacarose adicionados à bebida podem indicar que o teor de etanol também pode ter sido corrigido, prática que não é permitida pela legislação vigente (BRASIL, 1994).

Tabela 1 - Características físico-químicas de sidras varietais e comerciais.

Parâmetros	Sidras varietais			Sidras comerciais				Valor p
	Fuji	Gala	Granny Smith	A	B	C	D	
Açúcar redutor total (g/L)	2,02 ± 0,03 ^e	1,17 ± 0,22 ^e	0,48 ± 0,02 ^e	75,9 ± 2,40 ^c	55,70 ± 0,30 ^d	80,30 ± 0,60 ^b	93,00 ± 1,00 ^a	< 0,01
Extrato seco total (g/100mL)	1,05 ± 0,06 ^f	1,09 ± 0,08 ^f	1,44 ± 0,04 ^e	6,57 ± 0,04 ^c	6,01 ± 0,34 ^d	8,21 ± 0,05 ^b	10,03 ± 0,24 ^a	< 0,01
Teor alcoólico (°GL)	5,9 ^b	6,3 ^a	6,3 ^a	4,4 ^f	5,7 ^c	5,2 ^e	5,3 ^d	< 0,01
Acidez total (g/100mL)	0,331 ± 0,007 ^g	0,353 ± 0,00 ^f	0,599 ± 0,004 ^a	0,44 ± 0,01 ^d	0,41 ± 0,01 ^e	0,51 ± 0,01 ^c	0,55 ± 0,01 ^b	< 0,01
Acidez volátil (g/100mL)	0,018 ± 0,001 ^{ab}	0,020 ± 0,002 ^a	0,016 ± 0,001 ^{ab}	0,012 ± 0,001 ^b	0,021 ± 0,003 ^a	0,012 ± 0,001 ^b	0,011 ± 0,001 ^b	ns
pH*	3,57	3,74	3,48	3,24	2,63	3,52	3,25	-
Cinzas totais (mg/L)	702 ± 3,00 ^f	1752 ± 2,30 ^c	797 ± 3,00 ^e	599,98 ± 1,58 ^g	1767,84 ± 2,50 ^b	911,61 ± 2,09 ^d	1999,12 ± 1,20 ^a	< 0,01
Nitrogênio total (mg/L)	35,19 ± 0,016 ^{bc}	41,68 ± 4,41 ^b	63,41 ± 4,38 ^a	10,49 ± 0,92 ^d	16,68 ± 0,06 ^d	13,38 ± 0,01 ^d	32,16 ± 3,01 ^c	< 0,01
Anidrido sulfuroso (mg/L)	-	-	-	115,2 ± 9,1 ^b	44,80 ± 3,1 ^d	92,8 ± 4,5 ^c	138,0 ± 14,1 ^a	< 0,01
Cor*	0,258	0,224	0,335	0,087	0,055	0,073	0,046	-
Fenóis totais (mg/L)	171,01 ± 0,97 ^d	240,25 ± 3,32 ^c	341,01 ± 2,72 ^a	47,06 ± 2,27 ^f	86,27 ± 2,69 ^e	311,23 ± 2,27 ^b	323,35 ± 1,51 ^b	< 0,01

Nota: (*) adimensional; nd: não detectado; ns: não significativo; abc: letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as sidras (Teste de Fischer LSD). Os valores de extrato seco total correspondem ao inverso da umidade, apresentado na Figura 1.

Tabela 2 - Valores em $\delta\%^{13}\text{C}$, PDB das sidras varietais e comerciais.

Sidras	Média \pm Desvio padrão
Fuji	-30,04 \pm 0,20
Gala	-29,40 \pm 0,04
Granny Smith	-28,61 \pm 0,07
A	-15,15 \pm 0,17
B	-20,73 \pm 0,04
C	-23,49 \pm 0,06
D	-24,90 \pm 0,11

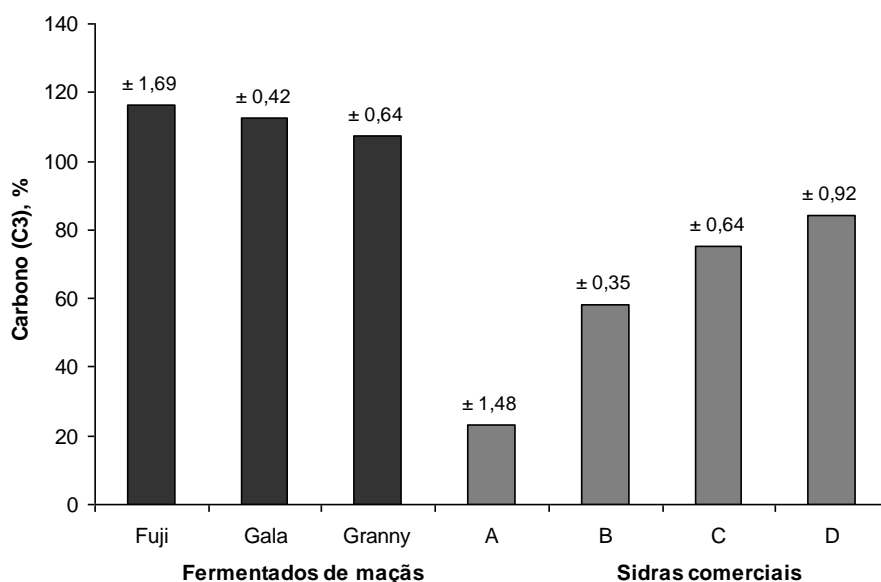


Figura 2 - Porcentagem de carbono C₃ em sidras de maçãs varietais e comerciais.

CONCLUSÕES

As análises físico-químicas atreladas ao gráfico PCA indicam diferenças entre as amostras de sidras experimentais e comerciais, além disso, os resultados fornecem dados que comprovam as adições e diluições das sidras comerciais com objetivo de obter um maior rendimento, o que é permitido pela legislação vigente. A análise de ^{13}C foi eficiente para a detecção de açúcares provenientes de outras fontes nas amostras comerciais com adições que variaram de 20 a 80%. A sidra 'A' apresentou o maior teor de adição de açúcar, porém não apresentou maiores teores de açúcar total e extrato seco total, indicando que esta sidra foi a mais diluída. Entretanto, dependendo da diluição haverá a necessidade de correção do

teor alcoólico o que não é permitido pela legislação que preconiza os padrões de qualidade para a sidra brasileira.

Estas adições de açúcar, água e aditivos, apesar de minimizar custos em função do maior rendimento, prejudicam a qualidade do produto. Esta prática certamente está influenciando a aceitação do produto pelo consumidor e conseqüentemente acarretando numa diminuição do consumo da bebida no país.

Unveiling of Brazilian cider composition by stable isotopes and physicochemical analysis

ABSTRACT

The consumption of apple cider has decreased in Brazil due to its poor quality and competition with other sparkling beverages. Commercial and experimental ciders (varietal ciders) were evaluated for physicochemical and isotope of ^{13}C analysis. The analysis showed differences between the products ($p < 0.05$), separating the commercial and experimental samples using principal component analysis (PCA). The isotope of ^{13}C analysis in commercial ciders was efficient to determinate that 20 to 80% of sugars content are coming from other sources, such as sugar cane. The cider "A" had the highest addition of sugar from other sources, however, it did not present the highest total sugar content and total solids, indicating that, in this cider was added water (dilution). In this way, the final alcoholic content, possibly, was corrected, which is not allowed in Brazilian legislation. The analytical and isotope of ^{13}C comparison between varietal and commercial ciders were efficient to detect the added compounds and to identify the cider dilution that compromises its sensorial quality.

KEYWORDS: cider, chemical composition, carbon ^{13}C analysis, quality

REFERÊNCIAS

ALBERTI, A.; VIEIRA, R. G.; DRILLEAU, J. F.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Apple wine processing with different nitrogen contents. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 54, p. 551-558, 2011.

BARON, A., BOHUON, G., DRILLEAU, J. F. Remarques sur l'indice formol des concentrés de jus de pomme. **Annales des Falsifications et de 'Expertise Chimique**, v. 70, n. 749, p. 19-26, 1977

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Diário oficial (da) República Federativa do Brasil. Brasília, 2009. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 01 abr. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, autoriza a criação da Comissão Inter setorial de Bebidas e dá outras providências. Diário oficial (da) República Federativa do Brasil. Brasília, 1994. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 01 abr. 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, **Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 04, de 05 de fevereiro de 2001.** Aprova a Metodologia de Análise da Razão Isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ em Produtos e Subprodutos das Plantas do Ciclo Fotossintético C_3 e C_4 . Diário oficial (da) República Federativa do Brasil. Brasília, 2001. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso em 01 abr. 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 64, de 23 de abril de 2008. Aprova os regulamentos técnicos para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para as bebidas alcoólicas fermentadas: fermentado de fruta, sidra, hidromel, fermentado de cana, fermentado de fruta licoroso, fermentado de fruta composto e saquê. Diário oficial (da) República Federativa do Brasil. Brasília, 2008. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso em 01 abr. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução CNS/MS nº 04, de 24 de novembro de 1988. Diário oficial (da) República Federativa do Brasil. Brasília, 1988. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 01 abr. 2016.

BUTTON, T. W.; NORDT, L. C.; ARCHER, S. R.; MIDWOOD, A. J.; CASAR, I. Stable carbon isotope ratios of soil organic matter and their potential use as indicators of palaeoclimate. **International Atomic Energy Agency – IAEA**, 1993.

CARVALHO, J. R. F.; SILVA, K. M.; SIMÕES, D. R. S.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Elaboração de fermentado frisante de maçã com características semelhantes à sidra francesa. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 97 - 144, 2010.

CARVALHO, J. R. F.; SILVA, K. M.; BRAGA, C. M.; ALBERTI, A.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Efeito da clarificação com gelatina no teor de compostos fenólicos e na atividade antioxidante de fermentados de maçãs. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, p. 41-49, 2011.

Devic, E.; Guyot, S.; Daudin, J. D.; Bonazzi, C. Kinetics of polyphenol losses during soaking and drying of cider apples. **Food Bioprocess Technology**, v. 3, p. 867-877, 2010.

DRAGONE, G.; ALMEIDA; SILVA, J. B. Cerveja. In VENTURI FILHO, W. G. **Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. São Paulo: Edgard Blücher, 2010, V1.

DUCATTI, C.; CARUJO, S.; PEZZATO, A. C.; MANCERA, P. F. A. Modelo teórico e experimental da reciclagem do Carbono-13 em tecidos de mamíferos e aves. **Ciência Agrícola**, v. 59, n. 1, p. 29-33, 2002.

DUCATTI, C.; SARTORI, M. M. P.; DENADAI, J. C.; COSTA, V. E.; PELÍCIA, V. E.; MACARI, M. Modelling and determination of metabolic pools by stable carbon isotopes in the avian duodenal mucosa and albumen. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 2015, p. 77-84, 2015.

FIGUEIRA, R.; NOGUEIRA, A. M. P.; DUCATTI, C.; VENTURINI FILHO, W. G.; MISCHAN, M. M. Análise isotópica ($\delta^{13}\text{C}$) e legalidade em néctares de uva. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 28, n. 2, p. 233-246, 2010.

FIGUEIRA, R.; NOGUEIRA, A. M. P.; VENTURI FILHO, W. G.; DUCATTI, C.; MISCHAN, M. M. Método de análise isotópica ($\delta^{13}\text{C}$) e quantificação da porcentagem de fonte C_3 em sucos de uva comerciais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 13, n. 2, p. 147-155, 2010.

FIGUEIRA, R.; NOGUEIRA, A. M. P.; VENTURI FILHO, W. G.; DUCATTI, C.; MISCHAN, M. M. Análise isotópica ($\delta^{13}\text{C}$) e legalidade em suco e polpa de caju. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 4, p. 317-324, 2011.

FIGUEIRA, R.; VENTURINI FILHO, W. G.; DUCATTI, C. Carbon isotope analysis in apple nectar beverages. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 1, p. 32-37, 2013.

GOMES, T. A.; SALVADOR FILHO, M. R.M.; ZIELINSKI, A. A. F.; PIETROWSKI, G. A. M.; NOGUEIRA, A. microbial levels in apple must and their association with fruit selection, washing and sanitization. **Journal of Food Safety**, v. 34, p. 141-149, 2014.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 1ª versão eletrônica. São Paulo: **Instituto Adolfo Lutz**, 2008.

KELLY, S. D. Using stable isotope ratio mass spectrometry (IRMS) in food authentication and traceability. In: LEES, M. **Food Authenticity and Traceability**. London: Woodhead, cap. 7, p. 156-183, 2003.

LEE, A-R.; GAUTAM, M.; KIM, J.; SHIN, W. J.; CHOI, M. S.; BONG, Y. S.; HWANG, G-S.; LEE, K-S. A multianalytical approach for determining the geographical origin of ginseng using strontium isotopes multielements, and H^1 NMR analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 8560-8567, 2011.

MARTINELLI, L. A.; MOREIRA, M. Z.; OMETTO, J. P. H. B.; ALCARDE, A. R.; RIZZON, L. A.; STANGE, E.; EHLERINGER, J. R. Stable carbon isotopic composition of the wine and CO₂ bubbles of sparkling wines: detecting C₄ sugar additions. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 2625-2631, 2003.

MIMMO, N.; CAMINE, F.; BONTEMPO, L.; CAPICI, C.; TAGLIAVINI, M.; CESCO, S.; SCAMPICCHIO, M. Traceability of different apple varieties by multivariate analysis of isotope ratio mass spectrometry data. **Rapid Communication in Mass Spectrometry**, v. 29, p. 1984-1990, 2015.

MONAKHOVA, Y. B.; GODELMANN, R., HERMANN, A.; KUBALA, T.; CANNETE, C.; SCHÄFER, H.; SPRaul, N.; RUTLEDGE, D. N. Synergistic effect of the simultaneous chemometric analysis of 1H NMR spectroscopic and stable isotope (SNIF—NMR, ^{18}O , ^{12}C) data: application to wine analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 833, p. 29-39, 2014.

NOGUEIRA, A. M. P.; FIGUEIRA, R.; DUCATTI, C.; VENTURI FILHO, W. G. Análise isotópica ($\delta^{13}C$) para detecção de adulteração em néctares de pêssego. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 2, p. 115-124, 2011.

NOGUEIRA, A.; PRESTES, R. A.; SIMÕES, D.R. S.; DRILLEAU, J. F.; WOSIACKI, G. Análise dos indicadores físico-químicos de qualidade da sidra brasileira. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, p. 289-298, 2003.

NOGUEIRA, A.; SANTOS, L. D.; PAGANINI, C.; WOSIACKI, G. Avaliação da fermentação alcoólica do extrato do bagaço de maçã. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 2, p. 187-194, 2005.

NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. **Apple cider fermentation**. In: Handbook of plant based fermented food and beverage technology, CRC Press, 2^o ed., p. 209-236, 2012.

OLIVEIRA, A. C. B.; SALIMON, C. I.; CALHEIROS, D. F.; FERNANDES, F. A.; VIEIRA, I.; CHARBEL, L. F.; PIRES, L. F.; SALOMÃO, M. S. M. B.; NOGUEIRA, S. F.; VIEIRA, S.; MOREIRA, M. Z.; MARTINELLI, L. A.; CAMARGO, P. B. Isótopos estáveis e produção de bebidas: de onde vem o carbono que consumimos? **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 3, 2002.

QUEIROZ, E. C.; DUCATTI, C.; VENTURINI FILHO, W. G.; SILVA, E. T.; NOJIMOTO, T. Quantificação do açúcar de cana em suco de laranja através da análise isotópica do Carbono – 13 ($\delta^{13}\text{C}$). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, n. 4, p. 278-284, 2008.

RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, D. **Traité d'Œnologie: chimie du vin, stabilisation et traitements**. Paris: Dunod, 1998.

RIZZON, L. A.; MIELE, A. Avaliação da CV. *Cabernet Sauvignon* para elaboração de vinho tinto. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.22, p. 192-198, 2002.

SANTOS, C. M. E.; PIETROWSKI, G. A. M.; BRAGA, C. M.; ROSSI, M. J.; NINOW, J.; SANTOS, T. P. M.; WOSIACKI, G.; JORGE, R. M. M.; NOGUEIRA, A. Apple amino acid profile and yeast strains in the formation of fusel alcohols and esters in cider production. **Food Chemistry**, v. 80, n.6, 2015.

SLEIMAN, M.; VENTURINI FILHO, W. G.; DUCATTI, C.; NOJIMOTO, T. Utilização de isótopos estáveis do carbono e do nitrogênio para determinar o percentual de malte em cervejas tipo Pilsen. **Brazilian Journal of Foods Technology**, v. 11, n. 2, p. 95-102, 2008.

SYMONEAUX, R.; COLLET, S.; BAUDUIN, R.; LE QUÉRÉ, J. M.; BARON, A. Impact of apple procyanidins on sensory perception in model cider (part 2): Degree of polymerization and interactions with the matrix components. **Food and Science Technology**, v. 57, p. 28-34, 2014.

TANNER, H.; BRUNNER, H.R. Getränke Analytik - Untersuchungsmethode für die Labor- und Betriebspraxis. Wädenswil: Verlag Helles, p. 206, 1985.

ZIELINSKI, A. A. F.; ALBERTI, A.; BRAGA, C. M.; SILVA, K. M.; CANTERI, M. H. G.; MAFRA, L. I.; GRANATO, D.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Effect of mash maceration and ripening stage of apples on phenolic compounds and antioxidant power of cloudy juices: a study using chemometrics. **Lebensmittel Wissenschaft Technologie - Food Science Technology**, v. 57, p. 223-229, 2014.

ZIELINSKI, A. A. F.; HAMINIUK, C. W. I.; ALBERTI, A.; NOGUEIRA, A.; DEMIATE, I. M.; GRANATO, D. A comparative study of the phenolic compounds and the in vitro antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. **Food Research International**, v.60, p. 246-254, 2014.

Recebido: 15 abr. 2016.

Aprovado: 28 jun. 2016.

DOI: 10.3895/rebrapa.v7n3.3902

Como citar:

ALBERTI, A. et al. Desvendando a composição da sidra brasileira por isótopos estáveis e análises físico-químicas. **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, v. 7, n.3, p. 133-149, set./dez. 2016. Disponível em: <https://periodicos.utfpr.edu.br/rebrapa>

Correspondência:

Alessandro Nogueira

Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UEPG; Av. General Carlos Cavalcanti 4748, Campus de Uvaranas, CEP: 84030-900, Ponta Grossa, PR, Brasil.

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

