

Efeito do processamento no teor de compostos fenólicos e na atividade antioxidante em fermentados de maçã

Effect of the processing in the phenolic compounds content and antioxidant activity in apple wine

Danianni Marinho Zardo^{1*}; Aline Alberti²; Ana Paula Campos Dantas²; Sylvain Guyot³; Gilvan Wosiacki²; Alessandro Nogueira²

Resumo

No processamento de maçã, os compostos fenólicos desempenham papel fundamental em aspectos sensoriais, como cor e sabor, e em aspectos funcionais em virtude da atividade antioxidante. O trabalho teve como objetivo avaliar o efeito das operações unitárias e da fermentação alcoólica no teor de fenóis e na atividade antioxidante de fermentados de maçã. Os teores de fenóis do mosto após a prensagem, sem oxidação enzimática, foram 1085 ± 265 ; 958 ± 94 e 787 ± 64 mg.L⁻¹ para as cultivares Gala, Joaquina e Fuji, respectivamente. Após a despectinização e filtração, com oxidação enzimática, os valores diminuíram para $451 \pm 6,4$; $408 \pm 4,2$ e $255 \pm 9,5$ mg.L⁻¹. As perdas foram observadas até 9 horas de fermentação, após este período os valores de fenóis permaneceram estáveis até o final do processo (360 horas). A atividade antioxidante apresentou efeito semelhante, os teores iniciais no mosto sem oxidação enzimática foram 10807 ± 1530 ; 8473 ± 853 e 6449 ± 1272 μM para Gala, Fuji e Joaquina, respectivamente. Porém, após a despectinização e filtração com oxidação enzimática, os valores diminuíram para 4376 ± 63 ; 1909 ± 84 e 2889 ± 55 μM para as três cultivares respectivamente e, após 360 horas de fermentação, os valores não apresentaram modificações significativas. As principais perdas de compostos fenólicos e de atividade antioxidante no processamento de fermentado de maçã ocorreram pela reação de escurecimento enzimático e pelas operações de despectinização e filtração.

Palavras-chave: Suco de maçã, operações unitárias, fermentação alcoólica, fenólicos, oxidação enzimática, antioxidante

Abstract

In the apple processing the phenolic compounds play a remarkable role in sensorial and functional aspects like color and flavor, and antioxidant activity, respectively. This work was done aiming to evaluate the effect of the different operations and the alcoholic fermentation in the phenol content and the antioxidant activity in apple wine processing. The phenol content of apple must without enzymatic oxidation was 1085 ± 265 ; 958 ± 94 and 787 ± 64 mg.L⁻¹ for the varieties Gala, Joaquina and Fuji, respectively. After the despectinization and filtration step, with total oxidation, the values had been reduced for 451 ± 6.4 ; 408 ± 4.2 and 255 ± 9.5 mg.L⁻¹. The losses were observed up to 9 hours of fermentation and after this period the values of phenols remain steady until the end of the process (360 hours). The antioxidant activity showed similar effect, with an initial content in apple must without enzymatic oxidation of

¹ Universidade Estadual de Ponta Grossa, Depto. de Engenharia de Alimentos - Bloco CTA, Campus de Uvaranas, CEP 84030-900, Ponta Grossa-PR. E-mail: danianni@uepg.br

² Universidade Estadual de Ponta Grossa, Campus de Uvaranas, Departamento de Engenharia de Alimentos, Ponta Grossa, Paraná, Brasil.

³ Institut National de la Recherche Agronomique, Station de Recherche Cidricole et Biotransformation des Fruits et Légumes, LeRheu, Bretagne, France.

* Autor para correspondência

10807±1530; 8473±853 and 6449±1272 µM for Gala, Fuji and Joaquina, and after the despectinização and filtration with enzymatic oxidation, the values decreased to 4376±63; 1909±84 and 2889±55 µM. The main losses of phenolics compounds and antioxidant activity in the fermentation processing of apple must occurred during the reaction of enzymatic browning within the operations of depectinization and filtration.

Key words: Apple juice, unitary operations, alcoholic fermentation, phenolics, enzymatic oxidation, antioxidants

Introdução

A procura de alimentos benéficos para a saúde e bem-estar vem aumentando, devido às evidências científicas sobre o papel de frutas e vegetais na prevenção de doenças crônicas não-transmissíveis e em declínios funcionais associados ao envelhecimento (SHAHIDI; HO, 2000; SHAHIDI; FINLEY, 2001). Os polifenóis desempenham atividade antioxidante e vem despertando interesse de consumidores e produtores de alimentos.

Os compostos fenólicos localizam-se nos vacúolos (97%), sendo que nas células da epiderme e sub-epiderme, as concentrações são superiores às quantidades dos tecidos internos. Em diferentes cultivares, a relação casca/polpa de concentração de fenóis pode ser de 3 a 10 vezes superior (NICOLAS et al., 1994). Em suco, fermentado e sidra, estes compostos apresentam considerável interesse tecnológico devido à sua influência nas características sensoriais do produto final (cor, sabores amargos e adstringentes, aromas e na claridade).

A elaboração de fermentados, como matéria-prima para a fabricação de sidra, destilados ou para vinagres, constitui um dos principais processos da agroindústria da maçã. No processamento de sucos, as características de cada cultivar e fatores regionais (solo e clima), adubação e tratamentos fitossanitários podem interferir no produto final (JANZATTI; FRANCO; WOSIACKI, 2003). Para elaboração de suco, as frutas com teores elevados de açúcar e ácidos são adequadas, contudo, os compostos fenólicos estão também sendo observados, devido à sua capacidade antioxidante, que colabora para a proteção dos efeitos prejudiciais ocasionados pelo

stress oxidativo sobre a saúde (LEE; SMITH, 2000; MANGAS et al., 1999; NOGUEIRA, 2003; LEA; DRILLEAU, 2003).

Em maçã, a composição fenólica compreende 5 principais classes: [1] os flavan-3-óis incluindo as formas monoméricas (catequinas) e poliméricas (procianidinas) constituídas por unidades de (-)-epicatequinas; [2] ácidos hidroxicinâmicos, com destaque a elevados teores de ácidos 5-cafeoilquinico e 4-*p*-coumaroilquinico; [3] dihidrochalconas, sendo os principais representantes a floretina glucosídeo e a floretina xiloglucosídeo, classe específica de maçãs; [4] flavonóis e [5] antocianinas na epiderme da fruta (GUYOT et al., 1998; ALONSO-SALCES et al., 2001; ALONSO-SALCES et al., 2004). Em média, a atividade antioxidante apresentada por estes compostos segue a ordem decrescente cianidina-3-galactosídeo > procianidinas > quercetina > ácido clorogênico > floridzina (TSAO et al., 2005).

Durante o processamento, a concentração de fenóis pode ser modificada pelo escurecimento enzimático, devido à ação da polifenoloxidase, formando precipitados (LEA; TIMBERLAKE, 1978; CLIFF; DEVER; GAYTON, 1991). A oxidação enzimática pode ser bloqueada pela utilização de inibidores como o dióxido de enxofre e o ácido ascórbico, que podem ou atuar sobre a enzima ou interagir com intermediários do processo oxidativo ou mesmo como agentes redutores, revertendo as quinonas aos compostos fenólicos originais (SHAHIDI; NACZK, 1995; SAYAVEDRA-SOTO; MONTGOMERY, 1986; NICOLAS et al., 1994).

Além da oxidação que ocorre durante e após a operação de trituração, o processo de clarificação do suco também contribui para as perdas de fenóis

durante o processamento de maçãs (SHAHIDI; NACZK, 1995). Na elaboração de fermentados, outro fato a se considerar é a condensação de alguns compostos fenólicos com o acetaldeído produzido pela *Saccharomyces cerevisiae*, alterando cor, adstringência e atividade antioxidante do produto (LOPEZ-TOLEDANO et al., 2004).

No trabalho, foi analisada a influência das etapas de transformação de maçã em fermentado sobre o teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante, visando avaliar o produto final e identificar as etapas que são responsáveis pela maior perda destes compostos.

Material e Métodos

Material

Amostras de 15 kg das cultivares Gala, Fuji e Joaquina (safra 2006/2007), foram cedidas pela Estação Experimental de Caçador da Empresa de Pesquisa Agropecuária e de Extensão Rural de Santa Catarina – Epagri.

Métodos

Processos

Processamento do suco. As frutas foram selecionadas, lavadas e trituradas (Processador Metvisa, Tipo: MPA). O suco foi extraído com duas prensagens (Prensa hidráulica Eureka, Hoppe Ind. Ltda, Brasil) uma com 1 min a 1 kgf.cm⁻² e outra com 3 min a 4 kgf.cm⁻². Enquanto o suco era extraído, ainda não oxidado, foram feitas as análises programadas. Uma parte (500 mL) foi mantida por 10 min em contato com o oxigênio do ar por agitação com barra magnética e analisada (suco oxidado por 10 min). O mosto restante foi despectinizado, Pectinex 3XL (Novozymes do Brasil) a uma concentração de 3 mL.hL⁻¹ e, após duas horas a temperatura ambiente (20 – 25°C), o sobrenadante foi trasfegado e filtrado.

Processamento do fermentado de maçã. O

suco clarificado de cada cultivar (3150 mL) foi dividido e transferido para cinco erlenmeyers de 500 mL, constituindo cada frasco um momento específico da fermentação. Cada suco foi inoculado com $2,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹ de *Saccharomyces cerevisiae* (Uvaferm CK – Danstar Ferment GAC, Denmark) e a fermentação foi monitorada pela contagem de células vivas em câmara de Neubauer (LEE; ROBINSON; WANG, 1981) e pela perda de peso dos fermentadores devida à liberação de gás carbônico (BELY; SABLAYROLLES; BARRE, 1990; ROGER; STEYER; MAUREL, 2002). Os cinco momentos de fermentação foram 0 (zero), 9, 18, 42 e 360 h; atingindo este tempo, o conteúdo do frasco era centrifugado e analisado.

Extração dos compostos fenólicos da fruta

As maçãs foram analisadas inteiras na presença do inibidor enzimático, cisteína-HCl, na concentração de 2,0 mM (C-7880 – SIGMA). As frutas foram trituradas em processador de alimentos (Modelo: METVISA – Tipo: MPA) e rapidamente colocada em contato com o inibidor enzimático e adicionada, na proporção de 1:1 (p/v), a uma solução extratora constituída de álcool 70%: água: ácido fórmico 3% (80:20:1), conforme metodologia descrita por McGhie, Hunt e Barnett (2005). Em seguida a amostra foi homogeneizada e fragmentada em mixer vertical (Black & Decker – Modelo: SB40), até se obter uma pasta; mantida a –16°C durante 24 h. Após o tempo de extração, as amostras foram centrifugadas (CELM – Modelo COMBATE – Série 3548) por 20 min a 2000g para análise.

Análises

Análises físico-químicas. Os teores de glucose foram determinados por método enzimático e os açúcares redutores pelo método clássico de Nelson (1944) e Somogyi (1945), expressos em g.100 mL⁻¹: a frutose foi calculada por diferença. A sacarose, para ser analisada por esta técnica,

foi previamente hidrolisada com HCl concentrado (5 mL de amostra/1mL de ácido). A acidez total titulável, calculada com o fator do ácido málico, foi determinada com NaOH 0,1 M, utilizando fenolftaleína 1 % como indicador (INSTITUTO ADOLFO LUTZ – IAL, 1976). O teor de álcool etílico foi determinado por ebuliometria e o teor de nitrogênio total foi analisado pelo clássico método de Kjeldhal, segundo Julien, Trioli e Dulau (2001).

Fenóis totais. Os compostos fenólicos foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965). Em um tubo de ensaio foram adicionados 8,4 mL de água destilada, 100 µL de amostra ou padrão de catequina, devidamente diluída, e 500 µL do reativo de Folin-Ciocalteu. Após 3 min de reação foi adicionado 1,0 mL de carbonato de sódio saturado em cada tubo, que foram agitados e depois de 1 h foi feita a leitura da absorbância em espectrofotômetro (Shimadzu – Mod. UV-Mini 1240) a 720 nm, tendo como branco uma solução contendo os reativos da análise e o inibidor enzimático. Os resultados foram expressos em mg.L⁻¹ de fenólicos totais, utilizando catequina como padrão (200 mg.L⁻¹).

Atividade antioxidante. Para a determinação da atividade antioxidante foi utilizada a metodologia de FRAP, descrita por Benzie e Strain (1996) e Pulido, Bravo e Saura-Calixto (2000). O reagente de FRAP foi preparado misturando **(a)** tampão acetato de sódio 300mM a pH 3,6; **(b)** solução de 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) 10mM em HCl 40 mM; **(c)** solução de cloreto férrico 20mM. Para obter o reativo FRAP os reativos **a**, **b** e **c** foram misturados na proporção de 10:1:1 no momento da análise. Como padrão foi utilizado o reativo ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxílico (TROLOX). Em um tubo de ensaio foram adicionados 3 mL do reagente FRAP e 100 µL do padrão e a leitura da absorbância foi feita à 593 nm,

utilizando o reagente FRAP como branco (P1). As leituras foram monitoradas durante 6 min (P6), a cada 15 s. A variação de absorbância entre P6 e P1 foi calculada para cada amostra, sendo traduzida em um valor de FRAP por proporcionalidade com a de uma solução de concentração conhecida – TROLOX – testada em paralelo. O resultado foi expresso como µmol de redução de ferro/poder antioxidante (valor de FRAP).

Resultados e Discussão

Características dos mostos e da fermentação alcoólica

Na Tabela 1 são apresentados os resultados médios de componentes dos mostos despectinizados das três cultivares. Segundo a classificação de Beech (1972) com base no teor de açúcar, o mosto da cultivar Fuji é classificado como **regular** (1047-1056 m.v⁻¹) e o mosto das cultivares Gala e Joaquina como **médias** (1057-1064 m.v⁻¹). A acidez dos mostos é considerada **baixa**, por ser inferior a 0,45 g.100mL⁻¹ (DRILLEAU, 1991). O nitrogênio consiste em um importante elemento para o crescimento das leveduras e os três mostos apresentam teores considerados **elevados** (>150 mg.L⁻¹) para o processamento do fermentado de maçã (NOGUEIRA; LEQUERE; BUDIN, 2003). A cultivar Fuji apresentou o maior teor de fenóis totais, considerada como **amarga** (>200 mg.L⁻¹) segundo Lea e Drilleau (2003) porém, ainda é um valor muito baixo quando comparada aos teores de mostos de maçãs industriais européias que podem alcançar até 5000 mg.L⁻¹. A maçã utilizada pelo setor industrial brasileiro consiste em frutas do descarte da classificação comercial, ou seja, são maçãs selecionadas com baixos teores de compostos fenólicos, principalmente de compostos adstringentes (taninos), pois são cultivares destinadas ao consumo *in natura*.

Tabela 1. Características químicas dos mostos despectinizados das cultivares de maçãs Gala, Fuji e Joaquina.

Parâmetros químicos	Mostos varietais		
	Gala	Fuji	Joaquina
Açúcar redutor total, g.100mL ⁻¹	11,41 ± 0,51	10,63 ± 0,61	12,46 ± 0,55
Frutose, g.100mL ⁻¹	7,87 ± 0,77	7,09 ± 0,54	8,01 ± 0,88
Glucose, g.100mL ⁻¹	1,43 ± 0,26	1,84 ± 0,80	1,87 ± 0,72
Sacarose, g.100mL ⁻¹	2,10 ± 1,09	1,69 ± 0,68	2,57 ± 0,54
Acidez total, g.100mL ⁻¹	0,25 ± 0,01	0,20 ± 0,02	0,26 ± 0,01
Nitrogênio total, mg.L ⁻¹	150,49 ± 3,65	149,48 ± 1,67	213,97 ± 5,57
Fenóis totais, mg.L ⁻¹	451 ± 6	255 ± 9	408 ± 4

Na Figura 1 A pode ser observado o consumo de nitrogênio pela *S. cerevisiae* durante a multiplicação celular. A levedura teve um tempo de adaptação ao meio de aproximadamente 24 h e a população máxima de $6,0 \times 10^7$ ufc.mL⁻¹ foi alcançada nos três mostos varietais após 5 dias. Como os teores de nitrogênio dos 3 mostos eram elevados, houve um residual nos produtos, mais acentuado no caso da cultivar Joaquina, porém não houve influência

na população máxima de leveduras. O consumo dos açúcares e a produção de álcool durante a fermentação alcoólica podem ser observados na Figura 1 B. A diferença do teor alcoólico está diretamente relacionado ao teor de açúcar inicial, sendo a cultivar Joaquina com maior teor alcoólico 7,8 % (v/v) enquanto os fermentados de Gala e Fuji ficaram com 6,5 e 6,9 % (v/v) ao final de 360 h (15 dias) de fermentação alcoólica.

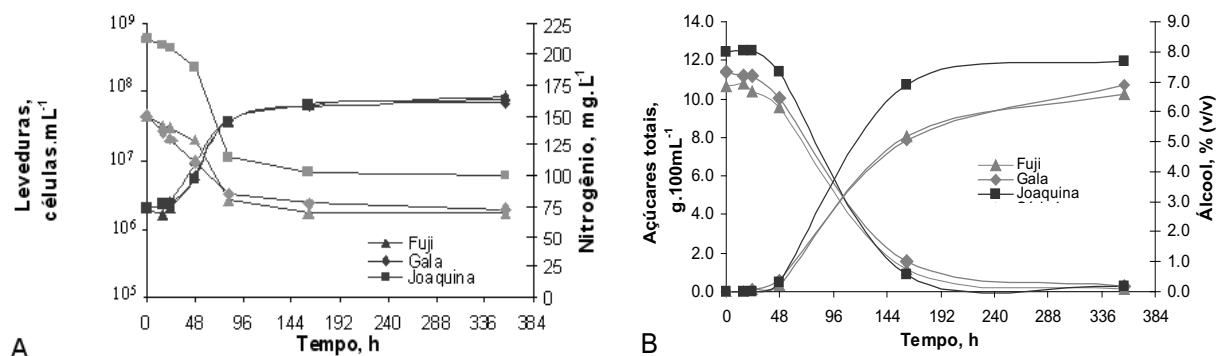


Figura 1. Fermentação alcoólica de *S. cerevisiae* Uvaferm CK nos mostos varietais das cultivares Fuji, Gala e Joaquina: (A) crescimento das leveduras e utilização do nitrogênio e (B) evolução dos açúcares e produção de etanol.

Efeito do processamento de fermentado de maçã

O teor de polifenóis no produto final depende da concentração e da atividade de polifenoloxidase e do teor dos seus substratos, os ácidos fenólicos, além do pH, da temperatura e da concentração de oxigênio dissolvido no suco (MURATA, 1995). Estes compostos participam da cor, *flavor* e adstringência dos mostos (LEA; DRILLEAU, 2003) e podem influenciar diretamente no consumo de oxigênio dissolvido através da reação de escurecimento enzimático (NICOLAS et al., 1994). Entretanto, em razão de trasfegas e da filtração do mosto, pode ter sido dissolvido oxigênio, considerado limitante no processamento de fermentado de maçã, porém não foi observada influência no crescimento das leveduras, que se mantiveram acima da

população média de $5,0 \times 10^7$ ufc.mL⁻¹ (WOSIACKI; NOGUEIRA, 2005). Após o inóculo das leveduras, o desenvolvimento da fermentação alcoólica dos três sucos despectinizados não apresentou diferenças expressivas nos teores finais de fenóis.

Os teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante nas frutas, no suco despectinado e nos produtos de fermentação das cultivares Gala, Fuji e Joaquina podem ser observados na Tabela 2. Nas cultivares analisadas, o teor de compostos fenólicos variou de 1165 a 2049 mg.L⁻¹, caracterizando um efeito varietal para as cultivares Fuji e Joaquina, respectivamente, com valores considerados baixos quando comparados às frutas européias, que podem alcançar até 7000 mg.L⁻¹ (NOGUEIRA et al., 2004; SANONER et al., 1999).

Tabela 2. Teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante em diferentes produtos da maçã.

Cultivar	Produtos	Fenóis totais (mg.L ⁻¹)	Atividade antioxidante (μM)
Gala	Fruta inteira*	1219 ± 53	15850 ± 460
	Suco despectinado	451 ± 6	4376 ± 63
	Fermentado de maçã	397 ± 2	3594 ± 66
Fuji	Fruta inteira*	1165 ± 29	12706 ± 428
	Suco despectinado	255 ± 9	1909 ± 84
	Fermentado de maçã	257 ± 9	1853 ± 60
Joaquina	Fruta inteira*	2049 ± 66	14722 ± 106
	Suco despectinado	408 ± 4	2889 ± 55
	Fermentado de maçã	402 ± 10	2781 ± 152

Nota: (*) sem oxidação enzimática.

No suco despectinado, os teores de fenóis totais diminuíram nas cultivares analisadas, comparado às frutas *in natura* (Tabela 2). Estas perdas estão relacionadas principalmente com a reação de escurecimento enzimático e com a operação de despectinização (NOGUEIRA; LEQUERE; BUDIN, 2003). Segundo Shahidi e Nacz (1995) a principal perda de compostos fenólicos durante o processamento de maçãs ocorre devido à oxidação enzimática durante a trituração da fruta, mas, as etapas de prensagem e clarificação também podem contribuir.

Root e Barrett (2004), analisando sucos

produzidos por trituração e prensagem da cultivar Jonagold, também verificaram uma perda significativa nos níveis de polifenóis, com redução aproximada de 50%, comparada à concentração da fruta *in natura*. A atividade antioxidante também teve seus valores reduzidos na ordem de 10%, o que demonstra que polifenóis antioxidantes podem ficar retidos no bagaço, não sendo extraídos com o suco.

Os teores de compostos fenólicos encontrados no fermentado de maçã para as três cultivares analisadas foram semelhantes aos encontrados por Heinonen, Lehtonen e Hopia (1998), os quais apresentaram valores oscilando entre 160 e 470 mg.L⁻¹.

A atividade antioxidante da fruta apresentou uma diminuição significativa, quando dela foi obtido o suco; isto também foi observado para o teor de compostos fenólicos. Durante e após a fermentação alcoólica a atividade antioxidante apresentou valor

semelhante ao do suco despectinizado. Entretanto, os valores finais foram diferentes para as cultivares analisadas, podendo ser proveniente da composição fenólica de cada uma das frutas.

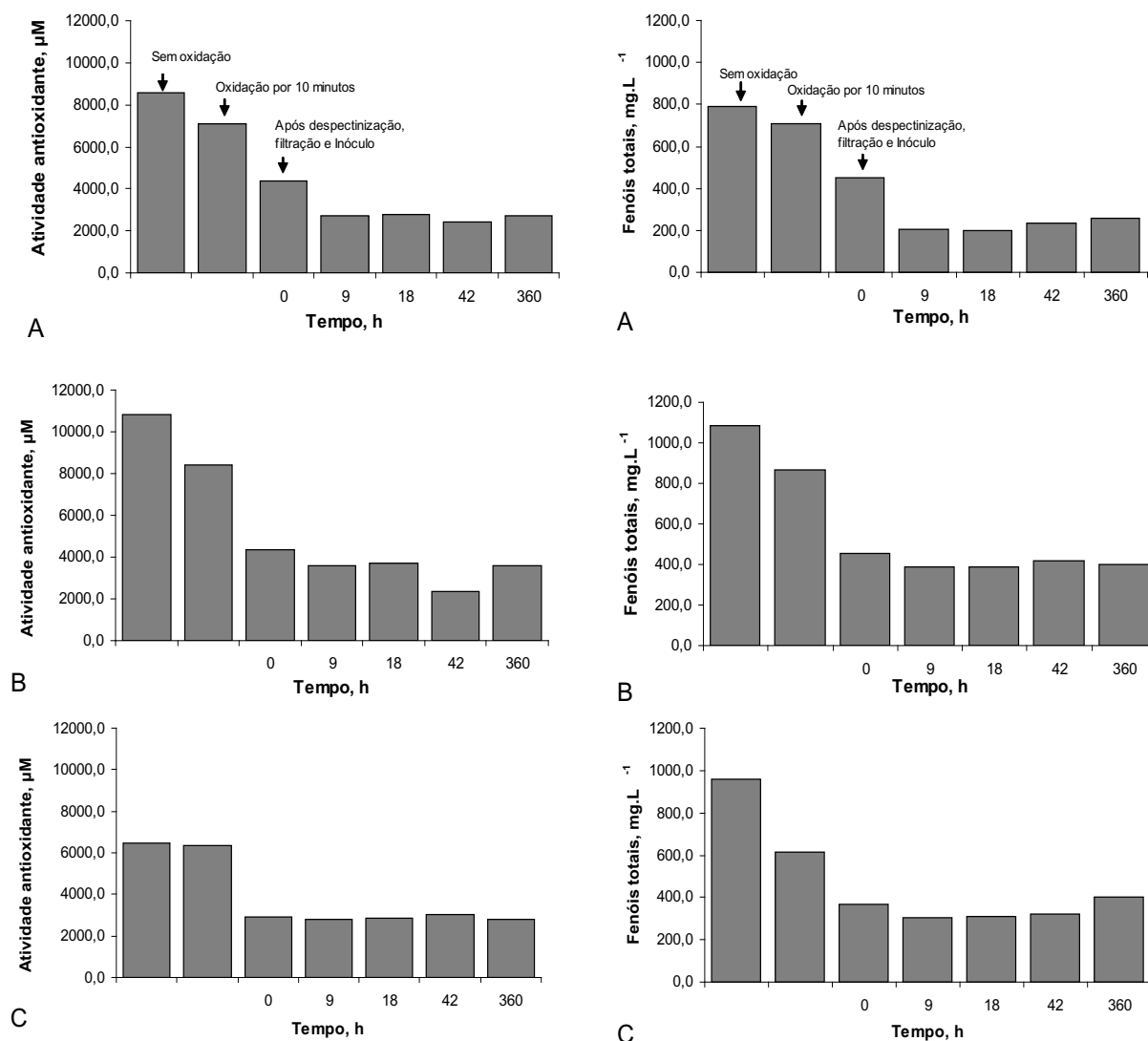


Figura 2. Efeito do processamento de fermentado de maçã nos teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante de três mostos varietais: (A) cultivar Fuji; (B) cultivar Gala e (C) cultivar Joaquina

Na Figura 2 pode ser verificado que a oxidação enzimática, em temperatura ambiente (25°C), causou perda nos teores de fenóis, concordando com o relato de Shahidi e Naczk (1995). Após a despectinização e filtração os valores diminuíram ainda mais e, após 9 h de fermentação, os valores de fenóis estabilizaram até o final do processo (360 horas). O tempo para despectinizar e filtrar correspondeu em aproximadamente 2 h e, até o processo de filtração, as perdas foram devido à reação de escurecimento enzimático. De acordo com Guyot et al. (2003) a classe de ácidos hidroxicinâmicos, substratos da polifenoloxidase, apresenta um elevado rendimento (65 %) no processamento de suco de maçã. Além disso, a celulose do papel filtro utilizado pode reter os compostos fenólicos e contribuir na sua diminuição (NOGUEIRA et al., 2004).

A atividade antioxidante apresentou efeito semelhante. Nos mostos os teores iniciais foram 10807±1530 para a Gala, 8473±853 para a Fuji e 6449±1272 µM para a Joaquina. No início da fermentação, após a despectinização e filtração, os valores diminuíram e, após 360 h de fermentação, mantiveram-se constantes para as três cultivares, conforme demonstrado na Tabela 2. Paixão et al. (2007), demonstraram valores de poder redutor em amostras de vinho branco que oscilaram entre 440 e 670 µM, baixos quando comparados ao fermentado de maçã.

Conclusão

As amostras de maçãs das cultivares Gala, Fuji e Joaquina apresentaram elevado teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante. No processamento de suco de maçã foram observadas perdas importantes de compostos fenólicos, com conseqüente diminuição da atividade antioxidante devido à reação de escurecimento enzimático e ao processo de despectinização. Em contraste, durante a fermentação alcoólica não foram observadas perdas de compostos fenólicos e de atividade antioxidante.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Universidade Estadual de Ponta Grossa pelo uso da infra-estrutura, à Estação Experimental de Caçador da Epagri/SC pela cessão das amostras de maçãs, bem como aos órgãos de fomento CNPq, CAPES/PRODOC e Fundação Araucária pela concessão de bolsas que possibilitaram o trabalho dos pesquisadores, e ao Grupo de Trabalho sobre Maçã – GTM (www.uepg.br/gtm), pelo apoio complementar cotidiano.

Referências

- ALONSO-SALCES, R. M.; KORTA, E.; BARRANCO, A.; BERRUETA, L. A.; GALLO, B.; VICENTE, F. Determination of polyphenolic profiles of basque cider apple varieties using accelerated solvent extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 49, n. 8, p. 3761-3767, 2001.
- ALONSO-SALCES, R. M.; BARRANCO, A.; ABAD, B.; BERRUETA, L. A.; GALLO, B.; VICENTE, F. Polyphenolic profiles of basque cider apple cultivars and their technological properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 52, n. 10, p. 2938-2952, 2004.
- BEECH, F. W. Cider-making and cider research: a review. *Journal of the Institute of Brewing*, London, n. 78, p. 477-491, 1972.
- BELY, M.; SABLAYROLLES, J. M.; BARRE, P. Description of alcoholic fermentation kinetics: its variability and significance. *American Journal of Enology and Viticulture*, Davis, v. 41, n. 4, p. 319-324, 1990.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, New York, v. 239, n. 1, p.70-76, 1996.
- CLIFF, M.; DEVER, M. C.; GAYTON, R. Juice extraction process and apple cultivar influences on juice properties. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 56, n. 6, p. 1614-1627, 1991.
- DRILLEAU, J. F. Consolider les connaissances et maîtriser la qualité du produit fini. *Revue Pomme à Cidre*, Paris, n. 23, p. 23-25, 1991.

- GUYOT, S.; MARNET, N.; LARABA, D.; SANONER, P.; DRILLEAU, J. Reversed-Phase HPLC following thiolysis for quantitative estimation and characterization of the four main classes of phenolic compounds in different tissue zones of a french cider apple variety (*Malus domestica* Var. Kermerrien). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 46, n. 5, p. 1698-1705, 1998.
- GUYOT, S.; MARNET, N.; SANONER, P.; DRILLEAU, J. Variability of the polyphenolic composition of cider apple (*Malus domestica*) fruits and juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 51, n. 21, p. 6240-6247, 2003.
- HEINONEN, I. M.; LEHTONEN, P. J.; HOPIA, A. Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 46, n. 1, p. 25-31, 1998.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ – IAL. Métodos físicos e químicos para análise de alimentos. São Paulo: IAL, 1976. (Normas Analíticas, 3).
- JANZATTI, N. S.; FRANCO, M. R. B.; WOSIACKI, G. Efeito do processamento na composição de voláteis de suco clarificado de maçã Fuji. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 23, n. 3, p. 523-528, 2003.
- JULIEN, A.; TRIOLI, G.; DULAU, L. Alcoholic fermentation control: the yeast growth actors and arrest prevention. *Revue des Enologues*, France, n. 101, p. 25-29, 2001
- LEA, A. G. H.; TIMBERLAKE, C. F. The phenolics of ciders: Effect of processing conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, London, v. 29, n. 5, p. 484-492, 1978.
- LEA, A.; DRILLEAU, J. F. Cider-making. In: LEA, A. *Fermented beverage production*. London: Kluwer Academic, 2003. p. 59-87.
- LEE, C. Y.; SMITH, N. L. Apples: an important source of antioxidants in the American diet. *Fruit Quarterly*, New York, v. 8, n. 2, p. 15-17, 2000.
- LEE, S. S.; ROBINSON, F. M.; WANG, H. Y. Rapid determination of yeast viability. *Biotechnology and Bioengineering Symposium*, New York, n. 11, p. 641-649, 1981.
- LOPEZ-TOLEDANO, A.; VILLANO-VALENCIA, D.; MAYEN, M.; MERIDA, J.; MEDINA, M. Interaction of yeast with the product resulting from of condensation reaction between (+)-catechins and acetaldehyde. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 52, n. 4, p. 2376-2381, 2004.
- MANGAS, J. J.; RODRIGUEZ, R.; SUAREZ, B.; PICINELLI, A.; DAPENA, E. Study of the phenolic profile of cider apple cultivar at maturity by multivariate techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 47, n. 10, p. 4046-4052, 1999.
- MCGHIE, T. K.; HUNT, M.; BARNETT, L. E. Cultivar and growing region determine the antioxidant polyphenolic concentration and composition of apples grown in New Zealand. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 53, n. 8, p. 3065-3070, 2005.
- MURATA, M.; TSURUTANI, I. M.; TOMITA, M. HOMMA, S.; KANEKO, K. Relationship between apple ripening and browning: changes in polyphenol content and polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 43, n. 5, p. 1115-1121, 1995.
- NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogyi method for determination of glucose. *The Journal of Biological Chemistry*, Bethesda, v. 2, n. 153, p. 375-380, 1944.
- NICOLAS, J. J.; RICHARD FORGET, F. C.; GOUPY, P. M.; AMIOT, M. J.; AUBERT, S. Y. Enzymatic browning reactions in apple and apple products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v. 34, n. 2, p. 109-157, 1994.
- NOGUEIRA, A.; OLIVEIRA, R. G.; DENARDI, F.; WOSIACKI, G. Características físico-químicas de 103 cultivares de macieira analisadas nas safras de 1984 a 2004. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19., 2004, Recife. *Anais...* Recife: CBCTA, 2004. p. 101.
- NOGUEIRA, A. *Tecnologia de processamento sidrícola: efeitos do oxigênio e do nitrogênio na fermentação lenta da sidra*. 2003. Dissertação. (Doutorado em Processos Biotecnológico Agroindustriais) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- NOGUEIRA, A.; LEQUERE, J. M.; BUDIN, R. Oxygène et stabilité. *Pomme à Cidre*, France, n. 5, p. 16-17, 2003.
- PAIXÃO, N.; PERESTRELO, R.; MARQUES, J. C.; CAMARA, J. S. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rosé and white wines. *Food Chemistry*, London, v. 105, n. 1, p. 204-214, 2007.
- PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 48, n. 8, p. 3396-3402, 2000.

- ROGER, J. M. S.; STEYER, J. P.; MAUREL, V. B. Pattern analysis techniques to process fermentation curves: Application to discrimination of enological alcoholic fermentations. *Biotechnology and Bioengineering*, New York, v. 79, n. 7, p. 804-815, 2002.
- ROOT, W. H.; BARRETT, D. M. Part II—Major processed products: Apples and apple processing. In: BARRET, D. M.; SOMOGYI, L.; RAMASWAMY, H. *Processing fruits: science and technology*. Ontario: CRC, 2004. p. 455-480.
- SANONER, P.; GUYOT, S.; MARNET, N.; MOLLE, D.; DRILLEAU, J. F. Polyphenols profiles of french cider apple varieties (*Malus domestica* sp.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 47, n. 12, p. 4847-4853, 1999.
- SAYAVEDRA-SOTO, L. A.; MONTGOMERY, M. W. Inhibition of polyphenoloxidase by sulfite. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 51, n. 6, p. 1531-1536, 1986.
- SHAHIDI, F.; FINLEY, J. W. *Omega-3 fatty acids: chemistry, nutrition and health effects*. Washington: American Chemistry Society, 2001. (ACS Symposium Series 788).
- SHAHIDI, F.; HO, C. T. *Phytochemicals and phytopharmaceuticals*. Champaign: ACS Press, 2000.
- SHAHIDI, F.; NACZK, M. *Food phenolics: sources, chemistry, effect, applications*. Pennsylvania: Technomic, 1995.
- SINGLETON, V.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, Davis, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.
- SOMOGYI, N. A new reagent for the determination of sugars. *The Journal of Biological Chemistry*, Bethesda, v. 1, n. 160, p. 61-68, 1945.
- TSAO, R.; YANG, R.; XIE, S.; SOCKOVIE, E.; KHANIZADEH, S. Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apple? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 53, n. 12, p. 4989-4995, 2005.
- WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Suco de maçã. In: VENTURINI FILHO, W. G. *Tecnologia de bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado*. São Paulo: Edgard Blücher, 2005. p. 255-292.