

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

MATHEUS DE MELO CARRARO

DETERMINAÇÃO DO *SHELF LIFE* DE UM NOVO PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE
SIDRA APÓS DIFERENTES TRATAMENTOS DE CONSERVAÇÃO

PONTA GROSSA

2022

MATHEUS DE MELO CARRARO

DETERMINAÇÃO DO *SHELF LIFE* DE UM NOVO PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE
SIDRA APÓS DIFERENTES TRATAMENTOS DE CONSERVAÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pertencente ao Setor de Engenharias, Ciências Agrárias e de Tecnologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Nogueira

PONTA GROSSA

2022

C313 Carraro, Matheus de Melo
Determinação do *Shelf-Life* de um novo processo de fabricação de sidra após diferentes tratamentos de conservação / Matheus de Melo Carraro. Ponta Grossa, 2022.
100 f.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Área de Concentração: Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Nogueira.

1. Frisante de maçã. 2. Pasteurização. 3. Conservantes químicos. 4. Qualidade microbiológica. 5. Composição química. I. Nogueira, Alessandro. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ciências e Tecnologia de Alimentos. III.T.

CDD: 664

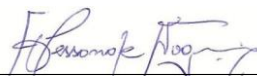
TERMO DE APROVAÇÃO

MATHEUS DE MELO CARRARO

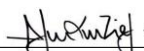
" Determinação do *Shelf-Life* de um novo processo de fabricação de sidra após diferentes tratamentos de conservação"

Dissertação aprovada como requisito para obtenção do grau de Mestre(a) no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Nogueira



Prof. Dr. Alessandro Nogueira - UEPG-PR - Presidente



Prof. Dr. Acácio Antonio Ferreira Zielinski - UFSC-SC- Membro Titular Externo



Prof^a. Dra. Aline Alberti - UEPG-PR - Membro Titular Interno



Prof. Dr. Ivo Mottin Demiate - UEPG-PR - Membro Titular Interno

Ponta Grossa 01 de setembro de 2022

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me guiado até aqui e que nos momentos mais difíceis foi o pilar de minha sustentação.

A minha Mãe Leila Carraro (*in memorium*), um exemplo de mãe e Professora, que abdicou de muitas vontades para criar a mim e ao meu irmão e nos ter proporcionado uma educação ímpar e sólida, estruturando o que sou hoje e pela inspiração de seguir seus passos de levar a luz do conhecimento onde reina a sombra da ignorância.

Ao meu Pai Nelson Vieira de Melo, um exemplo de pai, pela amizade, apoio e conselhos, os quais foram de suma importância para que eu chegasse aonde estou e que exemplificou a integridade moral.

Ao meu Avô Nestor Natal Carraro (*in memorium*), pelo exemplo de honestidade e bondade.

Às minhas Tias Jane Carraro (*in memorium*), Neura Carraro, Teresinha Carraro, Jovana Carraro e Josélia Carraro e aos meus padrinhos Paulo Roberto Favero e Rosângela Fürstenberger Favero pela consideração e carinho para comigo e pelos ensinamentos.

Ao meu orientador, Professor Dr. Alessandro Nogueira, pela confiança em mim para a realização do trabalho, conhecimentos partilhados e amizade e pelo incentivo constante. Exemplo de pessoa, profissional e mestre, que contribuiu não somente em minha edificação acadêmica, mas, também, para a maturidade de toda uma vida a seguir.

À Professora Aline Alberti, pelas sugestões, conversas, incentivo e apoio constantes ao decorrer do trabalho. A admiração estará sempre presente.

Agradeço aos meus amigos e aos colegas de laboratório, em especial à Isabela Maria Macedo Simon Sola, Thaís Estéfane Fisher e Matheus Carneiro Lechman, pelo apoio, incentivo e amizade.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade oferecida para a realização da Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa concedida.

E finalmente, mas não menos importante, à querida “Dê”, Denise Mendes, técnica em laboratório, pela ajuda e ensinamentos transmitidos e pelo exemplo de generosidade.

RESUMO

A sidra consiste em uma bebida obtida da fermentação alcoólica do mosto de maçãs. Dados estatísticos vêm demonstrando uma demanda crescente da bebida, principalmente pelo baixo teor alcoólico e não conter glúten. No entanto, a sidra desenvolvida (INPI BR BR020130170348) teve foco em sua comercialização refrigerada. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo reformular a bebida e avaliar diferentes tratamentos de conservação para assegurar a qualidade e segurança dessa bebida, tornando possível a sua comercialização em temperatura ambiente. A sidra experimental foi submetida a condições de tratamento térmico (60 e 80 °C por 15 min) e tratamento químico com sorbato de potássio (0,03 mg L⁻¹). Estes tratamentos foram comparados com a bebida armazenada em temperatura ambiente (± 20 °C) e refrigerada (7 a 10 °C). As bebidas foram avaliadas nos tempos zero, 30, 60 e 180 d de armazenamento. Foram realizadas análises microbiológicas (leveduras, bactérias lácticas, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e coliformes termotolerantes) e físico-químicas (densidade, pH, acidez total e volátil, teor alcoólico, fenólicos totais, perfil fenólico, atividades antioxidantes e cor). As análises microbiológicas, indicaram boas condições de processamento e inocuidade da bebida, onde obteve-se contagem mínima de *E. coli* e coliformes totais (< 3 NMP mL⁻¹) e ausência de *Salmonella* spp.. Nas amostras submetidas aos tratamentos térmicos, as populações de fungos e leveduras foram reduzidas em até 93 % logo após o tratamento e ao fim dos 180 d, remanesceram cerca 3,0 UFC mL⁻¹ para a sidra pasteurizada a 80 °C. Quanto às bactérias lácticas, a pasteurização a 80 °C causou redução ainda maior da população inicial, resultando em um decréscimo acima de 99 %, que se manteve até o fim do monitoramento e, portanto, as sidras se mantiveram, microbiologicamente, seguras por 6 meses em temperatura ambiente. Quanto as análises físico-químicas, as pasteurizações a 60 e 80 °C mantiveram a estabilidade dos teores de açúcares e de álcool das sidras durante os 180 d de monitoramento, mantendo esses parâmetros dentro do exigido pela legislação vigente. Apesar de oscilações, as sidras apresentaram conformidade com a legislação vigente quanto a acidez total (50 a 130 mEq L⁻¹) e volátil (< 30 mEq L⁻¹), com exceção do controle ambiente. A pasteurização da sidra a 80 °C ocasionou a maior perda de conteúdo fenólico total entre as amostras pasteurizadas, sendo de 8,6 %. As sidras pasteurizadas apresentaram quedas graduais em suas atividades antioxidantes por FRAP, DPPH e ABTS de até 32,7; 45,5 e 48,6 %, respectivamente. Também ocorreram mudanças acentuadas de cor durante o armazenamento, onde as sidras pasteurizadas apresentaram escurecimento significativo. A adição de 0,03 mg L⁻¹ de sorbato de potássio não foi eficiente para controlar/inibir o crescimento microbiano. Apesar das pasteurizações a 80 e 60 °C terem conseguido proporcionar segurança microbiológica por seis meses devido à redução da carga microbiana, sendo a de 80 °C mais eficiente, os tratamentos afetaram significativamente as atividades antioxidantes e a cor das bebidas, garantindo resultados promissores até dois meses de armazenamento, sendo que o tratamento a 60 °C apresentou melhores resultados. Pensando em questões sensoriais, como o sabor da bebida, o método mais indicado para a conservação da sidra foi a pasteurização a 60 °C 15 min⁻¹ e o prazo de validade comercial das sidras foi melhor estabelecido em 60 d.

Palavras-chave: Frisante de maçã. Pasteurização. Conservantes químicos. Qualidade microbiológica. Composição química.

ABSTRACT

Cider is a drink obtained from the alcoholic fermentation of apple juice. Statistical data have shown a growing demand for the drink, mainly due to its low alcohol content and gluten-free content. However, the cider developed (INPI BR BR020130170348) focused on its refrigerated commercialization. In this sense, the present work aimed to reformulate the drink and evaluate different conservation treatments to ensure the quality and safety of this drink, making it possible to commercialize it at room temperature. The experimental cider was subjected to heat treatment conditions (60 and 80 °C for 15 min) and chemical treatment with potassium sorbate (0.03 mg L⁻¹). These treatments were compared with the beverage stored at room temperature (± 20 °C) and refrigerated (7 to 10 °C). Beverages were evaluated at times zero, 30, 60 and 180 d of storage. Microbiological (yeasts, lactic acid bacteria, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* and total coliforms) and physicochemical analyzes (density, pH, total and volatile acidity, alcohol content, total phenolics, phenolic profile, antioxidant activities and color) were performed. microbiological conditions, indicated good processing conditions and safety of the beverage, where a minimum count of *E. coli* and total coliforms (< 3 NMP mL⁻¹) and absence of *Salmonella* spp. were obtained. In the samples submitted to heat treatments, the populations of fungi and yeasts were reduced by up to 93% right after the treatment and at the end of 180 d, about 3.0 CFU mL⁻¹ remained for the cider pasteurized at 80 °C. As for lactic acid bacteria, pasteurization at 80 °C caused a further reduction. greater than the initial population, resulting in a decrease above 99%, which was maintained until the end of the monitoring and, therefore, the ciders remained microbiologically safe for 6 months at room temperature. physicochemical lysis, pasteurizations at 60 and 80 °C maintained the stability of the sugar and alcohol contents of the ciders during the 180 d of monitoring, keeping these parameters within the requirements of current legislation. Despite oscillations, the ciders showed compliance with current legislation regarding total acidity (50 to 130 mEq L⁻¹) and volatile acidity (< 30 mEq L⁻¹), with the exception of ambient control. The cider pasteurization at 80 °C caused the greatest loss of total phenolic content among the pasteurized samples, being 8.6%. Pasteurized ciders showed gradual decreases in their antioxidant activities by FRAP, DPPH and ABTS of up to 32.7; 45.5 and 48.6%, respectively. There were also marked color changes during storage, where pasteurized ciders showed significant browning. The addition of 0.03 mg L⁻¹ of potassium sorbate was not efficient to control/inhibit microbial growth. Although pasteurizations at 80 and 60 °C were able to provide microbiological safety for six months due to the reduction of microbial load, with the 80 °C being more efficient, the treatments significantly affected the antioxidant activities and the color of the drinks, guaranteeing promising results for up to two months. storage, and the treatment at 60 °C showed better results. Considering sensory issues, such as the taste of the drink, the most suitable method for the conservation of cider was pasteurization at 60 °C 15 min⁻¹ and the commercial shelf life of ciders was better established at 60 d.

Keywords: Apple sparkling wine. Pasteurization. Chemical preservatives. Microbiological quality. Chemical composition.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Classificação das maçãs	14
Figura 2: Processamento da sidra brasileira	17
Figura 3: Estrutura química básica dos compostos fenólicos.....	21
Figura 4: Protocolo de fabricação da nova sidra com destaque para os tratamentos de conservação utilizados no projeto	38
Figura 5: Resultados médios para o pH das amostras	63
Figura 6: Resultados médios para a acidez total das amostras	64
Figura 7: Resultados médios para a acidez volátil das amostras	65
Figura 8: Aparência das sidras durante o monitoramento	77

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Classes de compostos fenólicos em sidras	22
Quadro 2: Definições de aditivos segundo órgãos reguladores	30
Quadro 3: Conservantes, micro-organismos alvo e aplicações	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição nutricional e fitoquímica da maçã	15
Tabela 2: Composição do mosto de maçãs industriais e mesa	16
Tabela 3: Concentração dos compostos aromáticos presentes no suco clarificado e no produto fermentado, expressos em mg L ⁻¹	20
Tabela 4: Fatores que afetam o crescimento de micro-organismos.....	26
Tabela 5: Parâmetros cromatográficos dos padrões de açúcares e glicerol utilizados	41
Tabela 6: Dados cromatográficos dos padrões fenólicos utilizados.....	45
Tabela 7: Resultados físico-químicos médios das amostras Sidra Base e Crio.Suco Crioconcentrado de Granny Smith.....	49
Tabela 8: Resultados de bolores e leveduras totais e bactérias lácticas das sidras	53
Tabela 9: Composição físico-química de sidras elaboradas com diferentes tratamentos de conservação durante o armazenamento de 180 dias	58
Tabela 10: Resultados médios do teor de compostos fenólicos totais e das atividades antioxidantes in vitro.....	67
Tabela 11: Teores médios dos compostos fenólicos individuais encontrados nas sidras.....	71
Tabela 12: Parâmetros de cor para sidras com diferentes tratamentos de conservação, armazenadas durante 180 d.....	74
Tabela 13: Posição cartesiana das amostras no sistema CIELAB*	76

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	11
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1	A MAÇÃ	12
3.2	A SIDRA	16
3.2.1	Histórico e Definição.....	16
3.2.2	Processamento e Legislação Brasileira	17
3.2.3	Perspectivas e Características de Qualidade	19
3.3	COMPOSTOS FENÓLICOS	21
3.4	MICRO-ORGANISMOS PRESENTES NA SIDRA	22
3.5	PRAZO DE VALIDADE (<i>SHELF-LIFE</i>)	25
3.6	ALTERAÇÕES MICROBIOLÓGICAS.....	27
3.7	MÉTODOS DE CONSERVAÇÃO	28
3.7.1	Aditivos	28
3.7.2	Pasteurização	33
3.8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
4.1	MATERIAIS	37
4.2	MÉTODOS.....	38
4.2.1	Processamento	38
4.2.1.1	Sanitização das maçãs	38
4.2.1.2	Sidra base	39
4.2.1.3	Suco crioconcentrado	39
4.2.1.4	Sidra final	40
4.2.2	Tratamento Térmico	40
4.2.3	Tratamento Químico.....	40
4.2.4	Monitoramento Físico-Químico	41
4.2.4.1	Açúcares e glicerol	41
4.2.4.2	Densidade	42
4.2.4.3	pH.....	42
4.2.4.4	Acidez total e volátil.....	42
4.2.4.5	Teor alcoólico.....	42
4.2.4.6	Conteúdo fenólico total	43
4.2.4.7	Atividades antioxidantes <i>in vitro</i>	43
4.2.4.8	Perfil fenólico	44
4.2.4.9	Análise de cor.....	45
4.2.5	Monitoramento Microbiológico	46
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	47
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	48
5.1	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA SIDRA BASE, SUCO CRIOCONCENTRADO DE MAÇÃ CV. GRANNY SMITH E SIDRA FINAL	48
5.2	MONITORAMENTO MICROBIOLÓGICO DAS SIDRAS FINAIS	52
5.3	MONITORAMENTO FÍSICO-QUÍMICO DAS SIDRAS	56
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	79
	REFERÊNCIAS	80

1 INTRODUÇÃO

A sidra consiste em uma bebida frisanse com baixo grau alcoólico proveniente da fermentação alcoólica do mosto de maçãs. Esta bebida quando bem elaborada é descrita com notas de aroma frutado e floral e apresenta harmonização entre acidez, adstringência e doçura (açúcares residuais). Os fatores que podem impactar nesta qualidade são a cultivar ou mistura de cultivares; o estágio de maturação; a tecnologia de processamento e as operações tecnológicas de conservação.

Estima-se que o mercado global de sidra deverá crescer 6,1% entre 2021-2027. Na América do Norte este valor chegará a 10,6%. Este crescimento é impulsionado pelo aumento na demanda por bebidas sem glúten e aumento da preferência por bebidas com baixo teor alcoólico. Não obstante, a sidra passou a ser produzida por grandes cervejarias multinacionais e logo foi seguido pelos produtores artesanais (microcervejarias) (MARKET DATA FORECAST, 2022; SINGH, 2018).

No caso da sidra brasileira, não há produção comercial de uma bebida obtida apenas de maçã, uma vez que apresenta diluição e correção com açúcares, ácidos orgânicos, aroma e cor. A falta de qualidade impacta diretamente na comercialização, a qual não ocorre durante o ano e se concentra apenas nas festas de final de ano. Além disso, a sidra nacional não apresenta atributos sensoriais consistentes, uma vez que se caracteriza como uma bebida com elevada doçura, pouca adstringência e acidez, caracterizando-a como uma bebida doce, sem corpo e sem atrativos aromáticos.

Com o objetivo de melhorar a qualidade da sidra produzida no Brasil, o Grupo de Trabalho sobre Maçã da Universidade Estadual de Ponta Grossa (GTM) desenvolveu um novo protocolo, depositado no INPI (BR020130170348), para a elaboração de sidra, o qual vêm demonstrando grande potencial tecnológico e aceitação sensorial. Entretanto, o protocolo desenvolvido objetivou apenas a comercialização da bebida de forma refrigerada (2-3 °C), assemelhando-se a um chope (cerveja não pasteurizada). Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi elaborar uma nova sidra com base nesse protocolo e determinar a vida de prateleira (*Shelf-life*) desta nova sidra e identificar qual método de conservação poderia ser utilizado nesta bebida a fim de que a mesma possa ser comercializada em temperatura ambiente com o mínimo de prejuízos nutricionais e sensoriais.

2 OBJETIVOS

Objetivo Geral

- *Aplicar* e avaliar métodos de conservação para um novo processo de fabricação de sidra a fim de estabelecer seu prazo de validade comercial.

Objetivos Específicos

- *Elaborar* uma nova sidra baseando-se no protocolo estabelecido em laboratório sob patente INPI BR020130170348 depositada no INPI;

- *Avaliar* o efeito da pasteurização e da adição de conservante utilizado em bebidas espumantes/frisantes no controle microbiológico da sidra, comparando com a bebida sem tratamentos, armazenada a temperatura ambiente e com a bebida sem tratamentos refrigerada entre 7 a 10 °C;

- *Monitorar* físico-química e microbiologicamente as bebidas nas diferentes condições de conservação nos tempos 0 (zero), 30, 60 e 180 dias de armazenamento a fim de identificar qual o melhor método de conservação desta nova sidra.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A MAÇÃ

Pertencente à classe Magnoliopsida e família *Rosaceae*, a maçã (*Malus domestica* Borkh) apresenta-se como cultura de clima subtropical e temperado de elevado interesse econômico. A fruta gera lucratividade e renda para produtores e sua colheita pode ser feita de forma manual ou mecânica. Possui características sensoriais e físico-químicas interessantes, como doçura, crocância, acidez, resistência ao armazenamento, ao transporte e outros fatores, como a presença de vitamina C, minerais, ácidos orgânicos, fenóis, flavonoides e fibras. Diferenças sutis nesses parâmetros ocorrem entre suas cultivares, porém, tais diferenças são percebidas pelo paladar dos consumidores, que por sua vez, poderão desenvolver sua preferência entre as variedades da fruta. Tal preferência implicará em preços diferenciados para cada variedade (LORDAN et al., 2018; SHANG, GUO, NELSON, 2015; SUN et al., 2020).

A macieira é uma planta de origem euroasiática e vem sendo domesticada, desde tempos antigos, para produzir frutos maiores, de coloração avermelhada e atrativos sensorialmente, como maior teor de açúcares, que as difere das maçãs nativas, que são menores e amargas. Entre outras características alcançadas pela domesticação desta planta, estão: maior produtividade, textura, conservação da fruta e tolerância ao frio. Aliando-se a isso, o cultivo da macieira é cada vez mais aprimorado, passando de árvores grandes e distantes umas das outras a árvores menores e mais próximas, elevando ainda mais a sua capacidade produtiva, mantendo ou elevando a qualidade dos frutos produzidos (D'ABROSCA et al., 2017; REIG et al., 2019).

A maçã configurou, no ano de 2019, a terceira posição das frutas mais produzidas no mundo, apenas atrás da banana e da melancia. Nesse mesmo ano, o Brasil foi o décimo primeiro produtor da fruta, com uma produção de 1,223 milhões de toneladas (FAO, 2020). Do total produzido no país, mais de 90 % corresponde a maçãs de mesa das cultivares Gala e Fuji com foco em seu consumo in natura, sem que haja a produção de cultivares específicas para a elaboração da sidra (ABPM, 2021; REINERHR et al., 2017). Sendo que o estado de Santa Catarina no ano de 2020 foi destaque na comercialização de maçãs, faturando um total de 16,5 milhões de dólares e estimou-se uma colheita superior a 550 mil toneladas para o ano de 2021. Além de o estado ser destaque na produção e colheita de maçã, é caracterizado pela qualidade das frutas (EPAGRI, 2021).

A maçã Gala teve origem na Nova Zelândia a partir do cruzamento das Cultivares Kidd's Orange Red e Golden Delicious. E sua coloração avermelhada é a característica

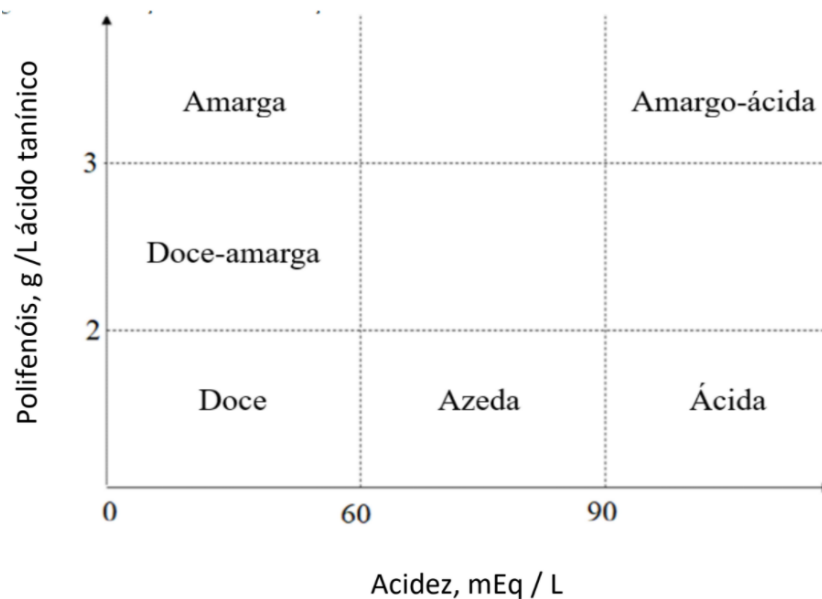
preferida e desejada pelos consumidores, uma vez que, para estes, a vermelhidão está associada à maior qualidade da fruta. Os frutos dessa cultivar possuem tamanho médio, cerca de 135 g, coloração não uniforme com tonalidades variando de amarelo e creme a vermelho em superposições verticais, sabor doce e acidez equilibrada, crocância e succulência e aroma agradável. Sua produção depende de muitas horas de frio e se estende de janeiro a março, mas com devidas técnicas de conservação, principalmente o emprego do frio, sua disponibilidade dura até nove meses (EVERETT et al., 2018; FERRAREZE et al., 2017).

O processamento da maçã deve levar em conta sua aptidão para o tipo do processo utilizado para o se obter o produto desejado, este devendo suprir as necessidades do consumidor. Uma cultivar apesar de possuir qualidades de produção, como resistência a doenças e adequado amadurecimento, pode não ser apta ao processamento e ao método de conservação do produto acabado, como exemplo o congelamento. As maçãs utilizadas na elaboração da sidra podem ser classificadas em maçãs não comerciais, aquelas não aptas a serem comercializadas in natura e as maçãs industriais. Além do mais, é interessante a variedade da fruta para que compostos como taninos, coloração, aroma e acidez sejam adequados de acordo com a sidra (GIRSCHIK et al., 2017).

As maçãs podem ser classificadas em maçãs de mesa e maçãs industriais. As maçãs de mesa devem possuir baixa acidez, aroma estável e agradável durante o processamento da fruta, polpa firme e não esponjosa ou farinhenta quando em estágio de maturação ideal e bom rendimento de suco. Por outro lado, as maçãs industriais são caracterizadas pelo alto amargor, teor de polifenóis, bem como pelas características de crescimento e produção (ALEXANDER, COLLINS, MILLES, 2019; IFPC, 2021; JAROS et al., 2009).

AgriNdie (2011), Lea e Drilleau (2003), Nogueira e Wosiacki (2016), citados por Alberti e Nogueira (2021) abordam que as maçãs são classificadas industrialmente conforme seu sabor em: doces, doce-amargas, amargas, ácidas, azedas e amargo ácidas como pode ser observado na a Figura 1.

Figura 1: Classificação das maçãs



Fonte: AgriNdie (2011), Lea e Drilleau (2003), Nogueira e Wosiacki (2016), Alberti e Nogueira (2021).

Do ponto de vista do setor de transformação, a maçã apresenta grande versatilidade, porque pode ser utilizada como matéria prima de produtos de alto valor agregado, tais como frutas secas, sucos, concentrados e bebidas alcoólicas – como a sidra –, uma vez que possui nutrientes ideais para o crescimento das leveduras (ALBERTI et al., 2011; YE, YUE, YUAN, 2014). Entretanto, o rendimento e a qualidade estão intimamente ligados a cultivar e ao tipo de processamento (WILCZYŃSKI, KOBUS, DZIKI, 2019).

Durante seu processamento, a maçã será transformada em duas partes: suco e bagaço. O suco poderá constituir até 75 % da massa total processada, entretanto, apresenta apenas uma fração dos compostos presentes no fruto intacto como observam Price et al. (1999). Essas diferenças se dão devido a solubilidade dos compostos, que quanto mais hidrofóbicos forem, maior será sua concentração no bagaço da maçã (VAN DER SLUIS et al., 2002). Alguns compostos, como os polifenóis, interagem através de ligações físico-químicas específicas com a parede celular da maçã e durante o processamento em suco, podem interagir com os componentes insolúveis e ficar retidos no bagaço (NICOLAS et al., 2009; RENARD et al., 2001). Embora a maioria dos polifenóis estejam presentes na matriz não volátil da sidra (GUO, YE, YUAN, 2019), ainda existem polifenóis voláteis, como os produzidos a partir da descarboxilação do ácido *p*-cumárico (PITTARI, MOIO, PIOMBINO, 2021). A Tabela 1 aborda as informações nutricionais e fitoquímicas da maçã.

Tabela 1: Composição nutricional e fitoquímica da maçã

Componente	Teor médio (em 100 g maçã)
Energia (kJ)	245
Proteína (g)	0,30
Gordura total (g)	0,30
Gordura saturada (g)	0,066
Gordura monoinsaturada (g)	0,009
Gordura poli-insaturada (g)	0,017
Carboidratos totais (g)	12,90
Frutose	5,86
Glucose	1,68
Sacarose	0,57
Fibra total (g)	2,70
Solúvel	2,00
Insolúvel	0,70
β -caroteno (mg)	25,00
Tiamina (mg)	0,016
Riboflavina (mg)	0,011
Vitamina B6 (mg)	0,051
Folato (mg)	9,00
Vitamina C (mg)	10,00
Cálcio (mg)	4,00
Ferro (mg)	0
Zinco (mg)	0,03
Iodo (mg)	0,20
Sódio (mg)	3,00
Potássio (mg)	120,00
Magnésio (mg)	4,00
Polifenóis totais (mg)	111,45
Flavanóis (mg)	96,33
Flavonóis (mg)	5,66
Dihidrochalconas (mg)	4,18
Antocianinas (mg)	1,62 (apenas maçãs vermelhas)
Ácidos hidroxicinâmicos (mg)	14,21
Fitosteróis totais (mg)	13,00*

Fonte: National Food Institute (2007), Schakel et al. (2001), Vrhovsek et al. (2004), Normen et al. (1999) citados por Jensen et al. (2009).

Nota: *: somatório de campesterol, β -sitosterol, estigmasterol, campestanol e β -sitostanol.

Alberti e Nogueira (2021) compilaram dados quanto a composição química dos mostos de maçã (maçãs industriais e maçãs de mesa). A Tabela 2 demonstra a composição de ambos os mostos.

Tabela 2: Composição do mosto de maçãs industriais e mesa

Parâmetros	Mosto de maçãs industriais	Mosto de maçãs de mesa
	min - máx	min - máx
Frutose (g L ⁻¹)	53 - 91	32 - 115
Glucose (g L ⁻¹)	07 - 27	06 - 61
Sacarose (g L ⁻¹)	18 - 49	15 - 57
Açúcares totais (g L ⁻¹)	90 - 137	76 - 163
Sorbitol (g L ⁻¹)	2 - 10	2 - 8
pH	2,9 - 4,2	2,9 - 4,4
Ácido málico (g 100 mL ⁻¹)	0,3 - 1,8	0,1 - 1,1
Pectina (g 100 mL ⁻¹)	0,1 - 1,0	0,37 - 0,70
Nitrogênio (mg 100 mL ⁻¹)	32 - 574	59 - 330
Aminoácidos (mg 100 mL ⁻¹)	25 - 2000	512 - 1184
Tiamina (µg 100 mL ⁻¹)	2,8 - 13,2	6,1
Cinzas (g 100 mL ⁻¹)	0,14 - 0,46	0,50 - 2,49
Potássio (mg 100 mL ⁻¹)	1019 - 1099	861 - 2628
Cálcio (mg 100 mL ⁻¹)	626 - 35	3 - 141
Fosforo (mg 100 mL ⁻¹)	68 - 87	53 - 111
Magnésio (mg 100 mL ⁻¹)	30 - 35	15 - 52
Fenóis totais (mg 100 mL ⁻¹)	94 - 2776	86 - 525
Ácido clorogênico (mg 100 mL ⁻¹)	12 - 824	30 - 232
Floridzina (mg 100 mL ⁻¹)	3,4 - 165	2 - 31
Flavonóis e procianidinas (mg 100 mL ⁻¹)	4,0 - 1700	6,0 - 412

Fonte: Abid et al. (2014); Alberti et al. (2011); Alberti et al. (2016); Goverd, Carr (1974); Kovacs et al. (1999); Lea, Drilleau (2003); Markowski et al. (2009); Nogueira et al. (2007); Paganini et al. (2004); Rosend et al. (2019); Wei et al. (2020); Wosiacki et al. (2008); Zardo et al. (2008); Zielinski et al. (2014), citados por Alberti e Nogueira (2021).

3.2 A SIDRA

3.2.1 Histórico e Definição

Esta bebida muito antiga que sequer se sabe quem a descobriu ou onde ela começou a ser produzida e consumida, tendo como motivo duas principais causas: a grande distribuição geográfica das maçãs pelas áreas temperadas da Europa e Ásia e pela falta de registros de sua origem. Há evidências de mais de 2.000 anos de que na região do Mediterrâneo era desenvolvida a prática da fermentação do suco de maçã a fim de se desenvolver bebidas alcoólicas agradáveis (ALBERTI et al., 2011; WATSON, 2013). Em tempos antigos, a bebida era chamada de *Sikera* pelos gregos, *Sichar* pelos hebreus e *Sicera* pelos romanos. Esta última dando origem ao atual nome da bebida “sidra” (COTON, COTON, GUICHARD, 2016).

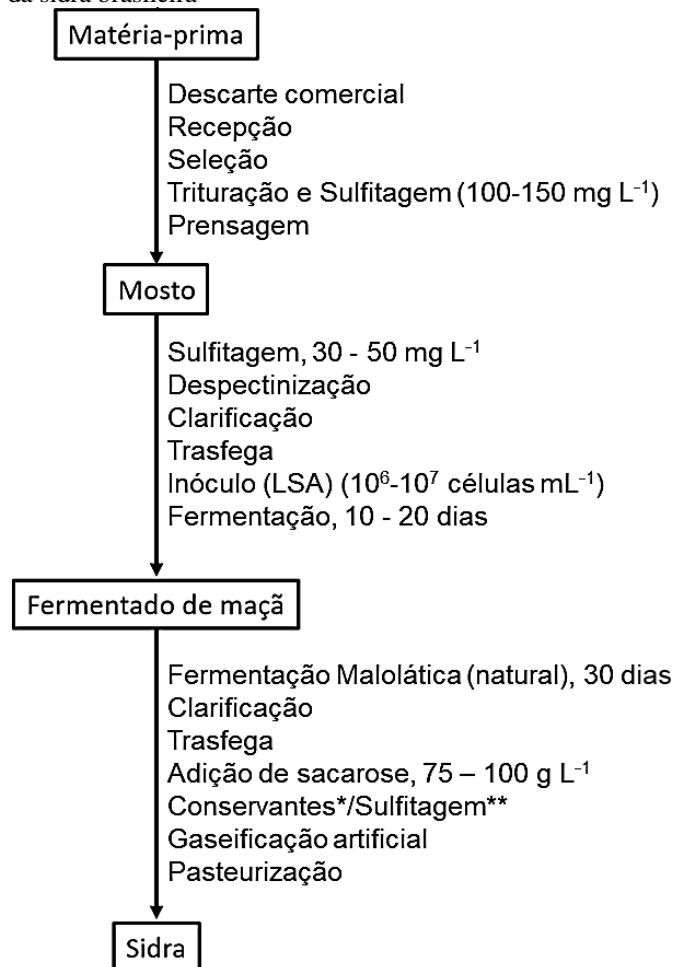
A sidra é uma bebida frisanse obtida pela fermentação alcoólica do mosto de maçãs. Possui características sensoriais marcadas principalmente pela adstringência, doçura, aromas frutados e florais que variam de acordo com a sua origem, cultivar ou mistura de cultivares de maçãs e seu estágio de maturação (verde, madura e senescente), tecnologias empregadas e sua

qualidade está intrinsecamente ligada a parâmetros fitossanitários (ALBERTI et al., 2016; NOGUEIRA, WOZIACKI, 2016; SANTOS et al., 2015; SANTOS et al., 2018; VILLAR et al., 2017; ZHAO et al., 2014).

3.2.2 Processamento e Legislação Brasileira

No Brasil, a maior parte da sidra é produzida a partir de maçãs que não possuem aptidão comercial, ou seja, aquelas que serão rejeitadas pelos consumidores por não apresentarem características que lhes supram suas necessidades, como aparência ruim, formato e tamanho inadequados e presença de injúrias causadas por danos mecânicos ou biológicos (SIMÕES, WASZCZYNSKYJ, WOSIACKI, 2009). O processo de produção de sidra no Brasil é apresentado na Figura 2.

Figura 2: Processamento da sidra brasileira



Fonte: Wosiacki, Cherubin e Santos (1997); Nogueira et al. (2003); Nogueira e Wosiacki (2016).

Nota: LSA: Levedura Seca Ativa; *: ácido sórbico e seus sais de sódio, potássio e cálcio (máximo de 0,05 g 100 mL⁻¹); **anidrido sulfuroso e seus sais de sódio, potássio, cálcio (máximo de 0,035 g 100 mL⁻¹), **metabissulfitos de sódio e de potássio (máximo de 0,035 g 100 mL⁻¹); e Dimetil dicarbonato (máximo de 0,025 g 100 mL⁻¹).

Em concordância com a Figura 2, as frutas são selecionadas, higienizadas com lavagens pelos métodos de aspersão ou imersão e em seguida esmagadas em moinhos de martelos para posterior extração do suco em prensas de pistão ou esteiras. No momento do esmagamento é comum ser adicionado metabissulfito de potássio na concentração de 100 a 150 mg L⁻¹, com duas finalidades, impedir o desenvolvimento microbiano contaminante e não deixar a reação de escurecimento enzimático ocorrer. Na sequência o mosto de maçãs é despectinizado com o auxílio de pectinases em concentrações previamente informadas pelo fabricante e pode ocorrer a adição de anidrido sulfuroso numa concentração entre 30 e 50 mg L⁻¹. Após 24 h, inicia-se o processo de trasfega do mosto para um fermentador e o precipitado é transferido para centrífugas para recuperar um maior volume de mosto despectinizado.

No mosto transferido para o fermentador inocula-se leveduras em sua forma seca ativa (LSA) em uma concentração de 20 g hL⁻¹. Essa etapa tem seu fim caracterizado pelo consumo total dos açúcares principalmente na formação de etanol, gás carbônico e energia para a levedura. O fermentado então é filtrado e despejado em outros tanques para que ocorra a sua maturação em um período de até 30 d. Sendo que em alguns estudos o período se estende em até quatro meses. Neste período de maturação ocorre de forma natural o desenvolvimento de bactérias lácticas, principalmente do gênero *Oenococcus* e *Leuconostoc*, que metabolizam o ácido málico em ácido láctico, melhorando a qualidade sensorial de sidras secas (sem açúcar residual). Ao fim desse processo, pode ser adicionado sacarose em concentrações variando de 75 a 100 g L⁻¹, e, se necessário, a acidez é corrigida adicionando ácido láctico ou cítrico. Neste momento podem ser adicionados os agentes de conservação metabissulfito de potássio, de 30 a 50 mg L⁻¹ de SO₂ livre, e o sorbato de potássio em conformidade com a concentração permitida pela legislação (máximo de 35 mg L⁻¹). Antes de ser envasada, carbonatada e pasteurizada, a sidra é clarificada com o auxílio de gelatina ou caseína e bentonite, respectivamente (NOGUEIRA et al., 2003; VILLAR et al., 2017).

A legislação brasileira define a sidra como sendo a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto de maçã fresca, sã e madura com graduação alcoólica compreendida entre quatro e oito por cento em volume a 20 °C, podendo ser desalcoolizada (< 0,5 % em volume), gaseificada e adicionada de açúcares e outros aditivos, como conservantes e acidulantes (BRASIL, 2009).

A legislação brasileira (IN nº 19/2020) também permite que, no processo de elaboração da bebida, seja adicionado polpa de fruta, suco de fruta, vegetais e suas partes e mel e a designa como: sidra seca aquela que contém teor de açúcar ≤ 30 g L⁻¹; sidra meio seco quando o teor de açúcar for compreendido entre 30,1 a 50 g L⁻¹ e sidra suave ou doce a bebida com teor de açúcar

entre 50,1 a 100 g L⁻¹ (BRASIL, 2020).

3.2.3 Perspectivas e Características de Qualidade

A sidra vem ganhando destaque entre as bebidas alcoólicas no cenário mundial uma vez que se tornou atrativa àqueles consumidores que almejam bebidas com baixo teor alcoólico (GIRSCHIK et al., 2017; HE et al., 2021). A bebida arrecadou cerca de US\$ 4,34 bilhões em 2018 e espera-se uma receita estimada de US\$ 5,43 bilhões para 2026 (FIOR MARKETS, 2020 apud OSTROM et al., 2022). Em outra pesquisa de mercado, estima-se que entre 2021 e 2027, o valor de mercado da sidra (incluindo fermentados de outras frutas) apresente crescimento médio de 6,1% ao ano, passando de US\$ 4,33 bilhões para US\$16,22 bilhões (MARKET DATA FORECAST, 2022). Aliado a isso, a bebida é isenta de glúten, fazendo com que sua perspectiva de crescimento seja ainda maior (SINGH, 2018), uma vez que incluirá consumidores intolerantes ou alérgicos a este componente.

Utilizando-se da classificação industrial das maçãs, as frutas amargas e as azedas são as que melhor proporcionam atributos sensoriais de aroma aos seus fermentados. Em contrapartida, devido a essas frutas serem produzidas em poucos países, como a França, a utilização das maçãs de mesa, que embora menos adequadas à produção da sidra, se faz necessária uma vez que são mais produzidas e suprem a necessidade produtiva da bebida (GIRSCHIK et al., 2017; YE, YUE, YUAN, 2014).

He et al. (2021), indicam que o sabor da sidra é o atributo sensorial mais importante desta bebida, sendo formado pela mistura de compostos voláteis e compostos não voláteis. Os mesmos autores atribuem os ésteres, álcoois superiores, aldeídos, cetonas, terpenos e fenóis voláteis aos compostos voláteis e os açúcares, ácidos e fenólicos aos compostos não-voláteis. Alguns desses compostos aromáticos são abordados, e comparados com os do suco clarificado, na Tabela 3.

Tabela 3: Concentração dos compostos aromáticos presentes no suco clarificado e no produto fermentado, expressos em mg L⁻¹

Compostos	Suco clarificado	Produto fermentado
2-Metil-1-propanol	1,91	23,02
3-Metil-butil-acetato	0,05	0,37
Butanol	33,57	32,45
3-Metil-1-butanol	4,90	81,28
1-Pentanol	0,23	0,23
Hexyl acetato	0,02	0,78
3-Hidroxi-2-butanona	0,47	2,74
Hexanol	4,38	3,89
Etil-3-hidroxi-butirato	0,13	0,18
2,3-Butanodiol	0,46	6,84
2-Metil-ácido propanóico	0,05	0,68
Butirolactona	0,08	0,27
2-Metil-ácido butanóico	0,40	1,19
Álcool bexílico	0,03	0,04
2-Fenil-etanol	0,11	4,09
Etil-tetradecanoato	0,14	0,14
Ácido octanóico	0,08	1,80

Fonte: Adaptado de Massiot et al. (1994) citado por Alberti e Nogueira (2009).

A diferença entre a composição das duas bebidas pode ser explicada pelo consumo de alguns desses compostos e formação de outros, a exemplo do hexanol e 3-metil-1butanol (ALBERTI, NOGUEIRA, 2009). Isso também está relacionado com o tipo de fermentação empregado, principalmente com a fase oxidativa da fermentação, que é promovida por leveduras de baixa ação fermentativa, como *Metschinikiwia pulcherrima* e *Hanseniaspora valbyensis* (DRILLEAU, 1996 apud ALBERTI, NOGUEIRA, 2009).

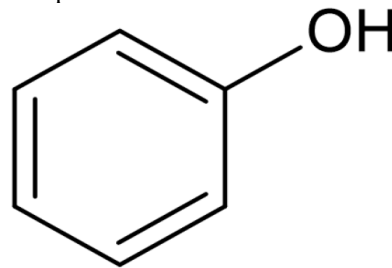
Outro fator importante para esse atributo, é sua acidez ($\text{pH} \leq 3,8$) e conteúdo de ácido málico, que quando encontrado em excesso (acima de 0,5 %) inferem a sensação de aspereza à bebida. Esse defeito pode ser solucionado através da fermentação malolática, onde bactérias ácido-láticas, como *Oenococcus oeni*, promovem a descboxilação desse ácido e o transformam em ácido lático, que é menos agressivo ao paladar (JACKSON, 2000; LEA, DRILLEAU, 2003).

Além disso, em vinhos espumantes, considera-se a espuma como um dos principais fatores de qualidade da bebida, dependendo fortemente dos componentes do vinho, que podem variar, por exemplo, com a cultivar da uva. Na sidra, como nesses vinhos, a espuma tem papel fundamental na qualidade da bebida, sendo avaliados a espuma inicial, sua persistência e locais de nucleação (CILINDRE et al., 2010, PENESAR et al., 2017).

3.3 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos são formados durante o metabolismo secundário das plantas a partir da fenilalanina e tirosina e possuem funções biológicas na planta, como crescimento e reprodução. Em alimentos, a presença desses compostos confere atributos como a cor, aroma e adstringência, além de atividade antioxidante (ANGELO, JORGE, 2007). A classificação desses compostos é abordada por Liu (2004), onde os fitoquímicos são classificados segundo sua estrutura química em estilbenos, cumarinas, taninos, ácidos fenólicos e flavonoides. Apesar das diferentes classes, esses compostos possuem uma estrutura básica formada por um anel benzênico com grupamento hidroxila (OH) (COHEN, KENNEDY, 2010), como mostra a Figura 3.

Figura 3: Estrutura química básica dos compostos fenólicos



Fenol

Fonte: Cohen e Kennedy (2010).

Dentre essas classes, os mais importantes na maçã são as dihidrocalconas, os flavonóis, os flavan-3-ols (catequina, epicatequina e procianidina), as antocianinas e os ácidos fenólicos (FROMM et al., 2012). Na sidra, esses compostos possuem grande importância, uma vez que influenciam em suas qualidades sensoriais, principalmente a cor, adstringência, amargor, aroma, acidez e turbidez, sendo os principais: as procianidinas, os flavonóis, as dihidrochalconas e os ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (VERDU et al., 2014; YE, YUE, YUAN, 2014; ZURIARRAIN et al., 2015).

Alguns exemplos desses compostos são mostrados no Quadro 1 juntamente com seus atributos conferidos pela classe e concentração encontrados.

Quadro 1: Classes de compostos fenólicos em sidras

Classes	Atributos	Composto	Sidra (mg L⁻¹)
Dihidrochalconas	Corante (amarelo ao alaranjado), Antitumoral, Anti-hipertensivo, Inibidor de enzimas	Floridzina	0,05 – 5,77
		Floretina-xiloglucosídeo	0,50 - 31,00
		Floretina	4,85
Ácidos hidroxicinâmicos	Antimicrobiano, Adstringência	Ácido clorogênico	6,19 a 435,69
		Ácido cafeico	1,09 a 55,84
		Ácido siríngico	0,57 - 1,66
		Ácido ferúlico	0,18 - 1,96
		Ácido caftárico	0,13 - 0,25
		Ácido cumárico	Traços – 1,16
		Ácido gálico	0,11 -3,85
		Ácido protocatecúico	0,80 – 3,36
		Ácido cinâmico	0,57
Flavonóis	Antimicrobiano, Antioxidante	Quercitina 3-galactosídeo	0,20 - 12,50
		Quercitina 3-glucosídeo	< 4,90
		Quercitina 3-ramnosídeo	0,40 – 8,90
		Quercitina	0,40 – 1,44
Flavanóis	Adstringência, Amargor, Turbidez, Antioxidante, Prevenção de infecções	Catequina	1.10 - 24,37
		Epicatequina	0,07 - 38,00
		Procianidina B1	0,60 - 4,6
		Procianidina B2	2,00 - 82,00
		Procianidina C1	1,60 - 4,5
		Galato de epicatequina	0,14 - 0,23

Fonte: Nelson e Falk (1993); Alonso-Salces et al. (2001); Du Pont et al. (2001); Johnston, Clifford e Morgan (2002); Janes et al. (2002), Pietta (2002); Tsao et al. (2003); Howell et al. (2005); Comeskey, Cooney e Rowan (2006), Mark, Mullen e Crozier (2007), Medina et al. (2007), Huber, Rodriguez-Amaya (2008), Cohen e Kennedy (2010); Fraga (2010); Efraim, Alves, Jardim (2011); Ranganathan et al. (2013); Huvaere e Skibsted (2014); Guo et al. (2015); Le Deun et al. (2015); Piñeros-Niño (2016); Benvenuti et al. (2019).

3.4 MICRO-ORGANISMOS PRESENTES NA SIDRA

A diversidade da microbiota da sidra apresenta alto grau de complexidade, contendo

diferentes classes, gêneros e espécies de micro-organismos. Esses são advindos desde a flor da macieira no momento da polinização por abelhas (HERRERA et al., 2009). Além disso, a diversidade de micro-organismos presentes na superfície das frutas varia de acordo com a região geográfica de cultivo, clima, cultivar, manejo do pomar e do armazenamento das mesmas. Pode desenvolver no interior da maçã, bem como, em superfícies secas. A colonização de micro-organismos é restrita às espécies acidófilas dadas as condições do meio, principalmente pelo pH baixo, e pela própria composição da fruta, e pode sobreviver por longos períodos de tempo (SETTIER-RAMÍREZ et al., 2021).

Grande parte dos microrganismos são incapazes de perfurar a camada epitelial cerosa da maçã e apenas conseguem povoar o interior da mesma quando a casca já esteja com avarias. As bactérias capazes de se desenvolver no interior da maçã são principalmente as bactérias acéticas, como *Acetobacter* e *Glucanobacter* (bactérias acéticas), *Lactobacillus*, *Pediococcus* e *Leuconostoc* (bactérias lácticas), tais microrganismos presentes na fruta acabam trazendo benefícios do ponto de vista nutricional (LIU et al., 2021).

Fungos são encontrados na superfície da maçã em concentrações que variam de 3,6 a 7,1 log UFC g⁻¹ (GRAÇA et al., 2015) e podem ser encontradas espécies desde causadoras de fitopatologias, como observam, Alonso et al. (2015), Batzer et al. (2012) e Ismail et al. (2016), que identificaram espécies da ordem Capniodiales, causadoras de manchas em maçãs, *Exobasidium* sp., que causa a má formação foliar, fungos das famílias Dissoconiaceae e Mycosphaerellaceae, causadores fuligem e manchas na maçã, a espécies úteis como observou Santos et al. (2015) e Aung et al., (2015) onde estudaram a aplicação de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Williopsis saturnus*, respectivamente, em sidra.

Segundo Jarvis (2014), os micro-organismos encontrados na superfície da maçã serão passados ao seu suco quando as frutas forem submetidas ao processo de prensagem e darão início ao processo fermentativo, que também pode ser iniciado através do emprego de inóculo de micro-organismos específicos, principalmente *Saccharomyces* spp.. O mesmo autor ainda traz micro-organismos típicos encontrados no suco de maçã recém processado, a) bactérias: *Acetobacter xylinum*, *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp. e *Clostridium* spp.; b) leveduras: *Saccharomyces cerevisiae* (var. *cerevisiae*; var. *uvarum*; var. *carlsbergensis*), *Saccharomyces ludwigii*, *Kloeckera apiculata*, *Candida pulcherrima*, *Pichia* spp., *Torulopsis famata* e *Rhodotorula* spp.; c) fungos filamentosos *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Peacilomyces varioti*, *Byssochlamys* spp. e *Botrytis* spp.

Os micro-organismos na sidra são quase que invariavelmente os mesmos presentes na fruta. As leveduras podem abranger espécies domesticadas ou não e espécies *Saccharomyces* e

não-*Saccharomyces*. Quanto as espécies bacterianas que compõe a microbiologia da bebida, encontram-se bactérias acéticas, como *Acetobacter aceti* e *Lactobacillus plantarum*, cocos heterofermentativos como a espécie *Leuconostoc*, sendo que as bactérias acéticas, estão relacionadas com a perda da qualidade da bebida (NADAI et al., 2018; YE, YUE, YUAN, 2014).

A microbiota da sidra também pode ser alterada pelo material do fermentador, bem como pode sofrer alterações pelo tempo de maturação como é abordado no estudo conduzido por Villar et al. (2017). Os autores trazem que a fermentação pode ocorrer em tonéis de madeira, poliéster ou aço inoxidável, e que tais materiais acabam impactando diretamente a qualidade do produto final, assim como, o tempo de processo fermentativo, que pode chegar até quatro meses.

As bactérias patogênicas que provém de produtos alimentícios é uma preocupação global. Comumente responsáveis pela contaminação de produtos frescos ou com condições ideais para o desenvolvimento desses microrganismos, podem contaminar maçãs quando essas entram em contato com o solo, equipamentos de colheita e equipamentos de processamento que estejam contaminados. Dentre as diversas espécies desses micro-organismos, podem ser encontradas as bactérias *Escherichia coli* e *Salmonella* spp (KANG, KIM, KANG, 2020; ZHANG, WANG, LU, 2021).

A *Escherichia coli* pertence à família *Enterobacteriaceae* e morfológicamente possuem forma de bacilo e é classificada como Gram-negativo. É incapaz de formar endósporos (estrutura de defesa quando em meio estressante) e a maioria de suas cepas são benéficas para o organismo humano. Pertencem ao grupo dos coliformes termotolerantes e são frequentemente associadas as condições higiênicas do ambiente, principalmente das condições sanitárias uma vez que provém do intestino de humanos e de animais (ELHADI et al., 2016; JANG et al., 2017).

Entretanto, algumas cepas, chamadas de *E. coli* patogênicas, adquiriram, ao longo da evolução da espécie, ganhos genéticos associados a fatores de virulência, como a codificação de proteínas específicas que viabilizam a penetração e colonização de hospedeiros, além de permitirem a síntese de toxinas. Dentre essas cepas, a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) desponta como a classe mais problemática dessas cepas, devido a se fixar no hospedeiro e produzir shiga-toxinas semelhantes às da bactéria *Shigella dysenteriae*, que causam colite hemorrágica, que, quando o quadro de infecção se agrava, pode evoluir para síndrome urêmica hemolítica e morte (HIRAI et al., 2014). Ewing e Rasco (2018) trazem que a dose infecciosa de *E. coli* O157:H7 (sorotipo mais patogênico dentre as EHEC) capaz de infectar pessoas varia de

10 a 100 células.

A *Salmonella* spp. assim como a *E. coli*, pertence à família Enterobacteriaceae, e também é um bacilo Gram-negativo incapaz de formar endósporos. O gênero *Salmonella* é dividido em duas espécies: *Salmonella entérica* e *Salmonella bongori*, sendo que a primeira agrupa mais de 2.400 sorotipos e a última, somente 22. Embora numerosos, apenas cerca de 100 sorotipos apresentaram envolvimento em casos clínicos humanos. Bactérias desse gênero são causadoras de doenças como febre tifoide, causada pela *Salmonella entérica* subespécie entérica sorotipo Typhimurium ou somente *Salmonella* Typhimurium (com letra maiúscula e sem grafia em itálico); febre paratifoide, causada pela *Salmonella* Paratyphi A e C; e salmoneloses ou enterocolites, que são causadas pelos demais tipos (MARZEL et al., 2016).

A dose infecciosa de *Salmonella* spp. pode variar consideravelmente, desde 1 a 100 células, por exemplo. Essa variação pode ser explicada pela composição do alimento, que pode aumentar o pH do estômago, propiciando um ambiente menos destrutivo; tipo do alimento, devido os líquidos permanecerem menos tempo no estômago; idade da pessoa e sua saúde, atingindo principalmente o público idoso e infantil (CHATTOPADHYAY et al., 2016; EWING, RASCO, 2018).

No estudo realizado por Amrutha, Sundar e Shetty (2017), a presença de *E. coli* e *Salmonella* spp. na superfície de frutas e vegetais frescos foram avaliados, tais patógenos tem capacidade para formação de biofilme, devido as condições ideais para o seu desenvolvimento.

3.5 PRAZO DE VALIDADE (*SHELF-LIFE*)

A conservação de alimentos surge na história muito antes da concepção das civilizações pela necessidade de se manter o excedente de alimentos colhidos ou provenientes da caça preservados para posterior consumo. Nesse sentido, os métodos de conservação originaram-se empiricamente, sem que se soubesse os porquês daqueles resultados de conservação, a exemplo do uso de calor, de frio, da adição de especiarias e defumação. Ao longo do tempo, os métodos de conservação foram estudados e aprimorados em bases científicas e diversas técnicas são utilizadas, como radiação, técnicas elétricas e químicas, utilização de ozônio, ultrassom, embalagens, biofilmes e uso de nanotecnologia (SRIDHAR et al., 2021).

O desenvolvimento dessas técnicas objetiva aumentar o prazo de validade (*shelf-life*) e superar a sazonalidade dos alimentos levando-se em conta o aumento de sua estabilidade, suas características nutricionais e sensoriais. Uma vez que a qualidade pode ser descrita como sendo

um estado dinâmico em constante deterioração (exceto para aqueles alimentos onde ocorre envelhecimento e/ou maturação), essas técnicas atuam inibindo ou minimizando os efeitos negativos causados por agentes físicos, químicos e biológicos a fim de se obter um alimento seguro (AZEREDO, 2012; BARROS et al., 2020; PARDO, ZUFÍA, 2012).

O prazo de validade pode ser definido como o período em que determinado alimento conseguirá assegurar, frente as condições de armazenamento, suas qualidades microbiológica e nutricional e, principalmente, sua qualidade sensorial, uma vez que alterações dessa natureza geralmente são percebidas antes que o alimento passe a fornecer riscos à saúde do consumidor (PARDO, ZUFÍA, 2012). Levando-se em consideração os parâmetros determinantes, como a embalagem, população inicial de micro-organismos e temperatura de armazenamento, este último é, frequentemente, o mais determinante na estipulação do prazo de validade, pois pode inibir, desacelerar ou maximizar o crescimento de micro-organismos e reações químicas que culminarão na perda nutricional e sensorial do produto

Determinar tal período é essencial, tanto para quem produz quanto para quem consome tal alimento, uma vez que é crescente a preocupação pelo frescor, segurança, conveniência e qualidade do produto. Desse modo, a data impressa na embalagem é o principal fator da aceitação ou não do produto pelos consumidores, seguida da confiança da marca, que pode ser drasticamente afetada quando um alimento inapto ao consumo é encontrado dentro do prazo de validade estipulado pelo fabricante, ocasionando a suspensão da recompra daquela marca (ASCHEMANN-WITZEL, 2018).

Segundo a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS, 2019) o fator biológico é o principal determinante da segurança dos alimentos, uma vez que os micro-organismos além de serem capazes de modificar as propriedades nutricionais do alimento, podem causar danos à saúde do consumidor. A mesma publicação traz fatores que afetam o crescimento desses seres microscópicos e os divide em: fatores intrínsecos e fatores extrínsecos, listados na Tabela 4.

Tabela 4: Fatores que afetam o crescimento de micro-organismos

Parâmetros intrínsecos	Parâmetros extrínsecos
Atividade de água	Temperatura
Disponibilidade de oxigênio	Umidade relativa
pH / Acidez	Composição atmosférica
Nutrientes disponíveis	Embalagem
Fatores antimicrobianos naturais	
Presença e características de microbiota natural	

Fonte: OPAS (2019).

3.6 ALTERAÇÕES MICROBIOLÓGICAS

Franco, Gombossy e Landgraf (1996) descreveram as alterações provocadas por micro-organismos nos principais constituintes dos alimentos: carboidratos, proteínas e lipídios. A metabolização dos carboidratos objetiva a obtenção de energia por parte dos micro-organismos, sendo que esse processo pode ser feito por meio de duas vias distintas: a via oxidativa, ocorrendo na presença de oxigênio e é utilizada, principalmente, por micro-organismos aeróbicos ou anaeróbicos facultativos; e a via fermentativa, utilizada por micro-organismos anaeróbicos estritos ou facultativos. Dessas vias, podem ser obtidos ácidos orgânicos, álcoois, acetaldeídos, e outros componentes que podem causar defeitos na qualidade dos alimentos. A metabolização das proteínas pode causar a putrefação do alimento, liberando marcaptanas, aminas e outras moléculas de odor desagradável, e deteriorando sua textura e, diferentemente dos carboidratos, seu consumo causa o aumento do pH do meio. A degradação dos lipídios devido aos micro-organismos ocasiona, principalmente a rancificação hidrolítica pela ação de enzimas liberadas pelos mesmos. Nesse processo há a liberação de ácidos graxos livres, que por sua vez, darão origem a odores desagradáveis.

Apesar dos potenciais efeitos negativos citados acima, Ewing e Rasco (2018) abordam que a etapa de fermentação do processo produtivo da sidra possui a capacidade de reduzir potencialmente a população de micro-organismos e seus riscos associados, devido a alterações das condições do meio, entre elas o abaixamento do pH, produção de compostos que irão favorecer um ambiente estressante (desfavorável) para o crescimento de micro-organismos que irão causar deterioração da bebida, como etanol e gás carbônico, além de as leveduras aumentarem a competição por substrato.

Os autores Valliere e Harkins (2020), abordam que a sidra oferece menor resistência do que o vinho ao ataque microbiano uma vez que o seu teor alcoólico é menor que o daquela bebida (11 a 15 % v v⁻¹ de etanol). O estudo conduzido por Venkatachalam, Techakanon e Thitithanakul (2018) mostra que defeitos tecnológicos na sidra podem ser ocasionados por microrganismos.

As principais alterações na sidra são a picada acética, que, dependendo do micro-organismo envolvido, pode ocorrer no início da fermentação ou no final da maturação da bebida e possui como característica o odor de vinagre a acidez na boca, além da formação de véu amarelado, largo e visguento na superfície da sidra; a picada láctica, alteração mais comumente encontrada nas sidras e se caracteriza pelo aumento exacerbado da acidez volátil provocado por bactérias ácido-láticas heterofermentativas; a picada acroleica, que ocorre somente nas sidras

que passarão pelo processo de destilação e gera compostos, durante a destilação, como a acroleína; a gordura (*graisse* ou *ropiness*), caracteriza-se pelo aumento da viscosidade causada pelo desenvolvimento de cadeias de glucano e é geralmente acompanhada da picada láctica; a *franboisé* ou *sickness*, defeito considerado particular da sidra, é discriminado pela alta concentração de etanal e formação de acetaldeído, outras alterações também podem ser observadas mediante esse fenômeno, como: formação de turvação leitosa pela associação de etanal e alguns compostos fenólicos, espuma fina e consistente e odor desagradável (DE LA MOTTE, 2007; NOGUEIRA, WOSIACKI, 2016).

Além desses defeitos, Grinbaum et al. (1994), citados por Valliere e Harkins (2020), trazem que a indústria de bebidas faz minucioso controle para que não ocorram refermentações no produto já envasado, uma vez que esse fenômeno pode causar a explosão da garrafa.

Corroborando com os autores anteriores, Leite et al. (2015) em seu estudo prospectivo sobre patentes de métodos de conservação de bebidas alcoólicas e tecnologias similares, detectaram, sob consulta on-line escritório europeu (Espacenet®) - que abrange depósitos de patentes de mais de noventa países -, que existem mais de 5.500 patentes referente a este tema, e que deste total, 23 % baseiam-se na adição de aditivos e 2 %, em métodos de filtração. Os autores não precisaram a porcentagem de patentes que utilizam o método de pasteurização como método de conservação, mas, nota-se naquele estudo, que essa porcentagem está entre 6 e 10 %.

3.7 MÉTODOS DE CONSERVAÇÃO

3.7.1 Aditivos

Os aditivos alimentares são utilizados há séculos na conservação de alimentos, mesmo que empregados de forma intuitiva aos alimentos, a exemplo do sal, que irá promover a diminuição da atividade de água do alimento; de ervas e especiarias, que podem conter compostos bactericidas e de Hidroxil anisol butilato (BHA) e butil galato, que são sintetizados durante o processo de defumação de carnes e promovem efeito antioxidante e bacteriostático (AWUCHI et al., 2020).

As definições de aditivos alimentares podem variar conforme o órgão ou agência reguladora de cada país, bloco econômico ou de entidades internacionais, conforme mostra o Quadro 2. Segundo a FDA (2010), aditivos diretos são aqueles adicionados intencionalmente aos alimentos para desempenharem funções específicas, como os conservantes, e devem estar

descritos no rótulo. Por outro lado, os indiretos aderem ao alimento por meio da embalagem e armazenamento por exemplo, sem que sejam propositalmente adicionados ao alimento.

Tais adjuntos proporcionaram à indústria alimentícia grande vantagens quanto à conservação e segurança dos alimentos e comodidade para o consumidor, que passou a adquirir produtos industrializados mais frequentemente. O consumo desses alimentos foi incentivado por propagandas midiáticas e *marketing* industrial, uma vez que a adição desses componentes proporcionou melhorias no aroma, cor, sabor e textura dos alimentos, deixando-os mais atrativos, além de possibilitar que sua comercialização seja feita em áreas mais distantes daquela em que é produzido devido ao aumento de sua vida de prateleira (ALBUQUERQUE et al., 2012; MANZEL et al., 2014).

Saltmarsh (2013) ressalta que as indústrias levam em consideração os custos envolvidos para manter o alimento seguro e optam pelo de menor custo. Os mesmos autores inferem, ainda, que os aditivos apresentam menor custo quando comparados a outros métodos de conservação, como a pasteurização – que exige alta carga de energia-, e devido a isso, são preferidos.

No Brasil, a Portaria Nº 540, de 27 de outubro de 1997, da ANVISA (BRASIL, 1997), infere que para a liberação de seu uso, os mesmos devem ser submetidos a avaliação toxicológica para assegurar sua inocuidade quanto a efeitos de sinergia, acumulação e proteção; e define os aditivos em 23 grupos conforme suas funções. Entretanto o número de grupos de aditivos não é unânime entre os órgãos reguladores, a exemplo da EFSA (Regulamento 1333/2008), que os divide em 26 grupos distintos (JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA, 2008).

Dentre esses grupos, estão os aditivos conservadores, sendo definidos como “substância que impede ou retarda a alteração dos alimentos provocada por microrganismos ou enzimas” e os aditivos estabilizantes como “substância que torna possível a manutenção de uma dispersão uniforme de duas ou mais substâncias imiscíveis em um alimento” (BRASIL, 1997).

Quadro 2: Definições de aditivos segundo órgãos reguladores

País/ bloco/ entidade	Órgão regulador	Definição	Fonte
Brasil	Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)	“Qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento. Ao agregar-se poderá resultar em que o próprio aditivo ou seus derivados se convertam em um componente de tal alimento. Esta definição não inclui os contaminantes ou substâncias nutritivas que sejam incorporadas ao alimento para manter ou melhorar suas propriedades nutricionais”.	1
Organizações das Nações Unidas (ONU)	United Nations Food and Agriculture Organization (FAO) e World Health Organization (WHO)	“aditivo alimentar significa qualquer substância que não é normalmente consumida como alimento nem é normalmente usada como ingrediente característico de alimentos, tenha ou não valor nutricional e cuja adição intencional aos alimentos para uma finalidade tecnológica (incluindo organoléptica) na fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, transporte ou preservação desse alimento, resulta ou se espera que resulte (direta ou indiretamente) em que ele ou seus derivados se tornem um componente de tais alimentos ou afetem suas características. O termo não inclui contaminantes ou substâncias adicionadas aos alimentos para manter ou melhorar a qualidade nutricional”.	2
Estados Unidos da América	United States Food and Drug Administration (FDA)	“Qualquer substância adicionada ao alimento cujo uso pretendido resulta ou pode-se razoavelmente esperar que resulte -direta ou indiretamente- em se tornar um componente ou afetar as características de qualquer alimento, incluindo etapas desde a produção até sua estocagem”.	3
União Europeia	European Food Safety Authority's (EFSA)	“Os aditivos alimentares são substâncias que não são consumidas habitualmente como géneros alimentícios em si mesmas, mas que são intencionalmente adicionadas aos géneros alimentícios para atingir determinado objetivo tecnológico. [...] Não deverão ser consideradas aditivos alimentares as substâncias cuja utilização tenha por objetivo conferir determinado aroma e/ou sabor ou tenha fins nutricionais, tais como os sucedâneos do sal, as vitaminas e os minerais”.	4

Nota: 1: Brasil (1997); 2: Codex Alimentarius (2016); 3: *Food and Drug Administration* (2010); 4: Jornal Oficial da União Europeia (2008).

A fim de se padronizar os aditivos utilizados no Brasil com a linguagem internacional, conforme o *Codex Alimentarius*, a RDC N° 259, de 20 de setembro de 2002 (BRASIL, 2002) estabelece que os conservantes – e os outros aditivos – além de serem especificados nominalmente logo após a sua função no alimento ao fim da lista de ingredientes na embalagem do produto, deverão conter seu código numérico atribuído no Sistema Internacional de

Numeração (INS, sigla em inglês).

Na sidra, a legislação vigente no Brasil, a saber: Resolução CNS/MS Nº 04, de Novembro de 1988 (BRASIL, 1988), permite apenas a utilização dos seguintes conservantes: ácido sórbico (INS 200) e seus sais de sódio (INS 201), potássio (INS 202) e cálcio (INS 203) na concentração máxima de 0,05 g 100 mL⁻¹, de dióxido de enxofre ou anidrido sulfuroso (INS 220), de sulfitos de sódio (INS 221), potássio (INS 225) e cálcio (INS 226), de bissulfitos de sódio (INS 222), cálcio (INS 227) e potássio (INS 228) e de metabissulfitos de sódio (INS 223) e potássio (INS 224) na concentração máxima de 0,035 g 100 mL⁻¹. Dimetil dicarbonato (INS 242) também pode ser utilizado como conservador da bebida, em acordo com a RDC Nº 397, de 25 de junho de 2020, na concentração máxima de 0,025 g 100 mL⁻¹ (BRASIL, 2020).

Varzakas (2016) informa que o emprego dos conservantes nos alimentos deve considerar fatores como: as características físico-químicas do aditivo, como solubilidade e toxicidade; quais micro-organismos contaminantes são mais aptos a contaminar esse alimento e quais as características físico-químicas do alimento. Ademais, esses aditivos carecem de registro, perante ao órgão regulador, contendo dados sobre sua origem, toxicologia, sua estrutura e propriedades químicas (SUN, WANG, 2017). O Quadro 3 mostra alguns aditivos.

Quadro 3: Conservantes, micro-organismos alvo e aplicações

Composto	Alvo	Aplicações
Ácido acético, acetatos, diacetatos, ácido dihidroacético	Leveduras e bactérias	Produtos de padaria, condimentos, confeitados, laticínios, óleos e gorduras, carnes e molhos
Ácido benzóico	Leveduras e mofos	Bebidas, margarinas e derivados de frutas
Dicarbonato de dimetila	Leveduras	Bebidas
Ácido láctico, lactatos	Bactérias	Carnes, alimentos fermentados
Lactoferrina	Bactérias	Carnes
Arginato láurico	Bactérias	Carnes
Lisosima	<i>Clostridium botulinum</i> , e outras bactérias	Queijo, tripas, carne cozida e produtos avícolas
Natamicina	Mofos	Queijo
Nisina	<i>Clostridium botulinum</i> , e outras bactérias	Queijo, tripas, carne cozida e produtos avícolas
Nitrito, nitrato	<i>Clostridium botulinum</i>	Carnes curadas
Parabenos (alquil ésteres (propil, metil, heptil) de ácido p-hidroxibenzoico)	Leveduras, mofos e bactérias Gram positivas	Bebidas, assados, xaropes e linguiça seca
Ácido propiônico e propionatos	Mofos	Produtos de padaria, laticínios
Ácido sórbico, sorbatos	Leveduras, mofos e bactérias	Bebidas e vinhos

Fonte: Davidson, Taylor e David (2020), adaptado

Ácidos fracos, como os ácidos benzóico e sórbico e seus sais e sulfitos, são amplamente empregados como conservadores de alimentos. Apesar de possuírem estruturas químicas diferentes, o mecanismo de ação desses compostos, de forma geral, se dá por

interações com as membranas da célula, inibindo suas funções; pela desestabilização do pH da célula, a qual entra em colapso metabólico como consequência desse desequilíbrio, ocasionado pela perda de funções enzimáticas, e ainda, perda do transporte de nutrientes (AZEREDO et al., 2016; BENSID et al., 2020).

O mecanismo de ação dos ácidos contra micro-organismos é embasado em sua dissociação. Ácidos fracos são mais eficientes que os ácidos fortes uma vez que os últimos se encontram totalmente ionizados em pH baixo e, portanto, incapazes de permear as membranas celulares. Por outro lado, os ácidos fracos se mantêm em equilíbrio entre seu estado dissociado (RCOO^-) e seu estado não-dissociado (RCOOH), que é capaz de adentrar ao citoplasma do micro-organismo e promover os efeitos adversos ao metabolismo do mesmo (ORIJ, BRUL, SMITS, 2011).

Na sua forma não dissociada, esses ácidos são facilmente absorvidos pela célula por difusão devido ao seu caráter lipofílico e, presume-se que, sua concentração no interior da célula é a mesma do meio, todavia, a concentração de íons é regida pelo pH e pela sua constante de dissociação. Quando no interior da célula, ocorre sua dissociação devido ao pH intracelular ser próximo de neutro. Os íons formados (H^+ e RCOO^-) possuem caráter hidrofílico e, portanto, a magnitude de sua difusão é ínfima acarretando seu acúmulo no interior da célula. Esse acúmulo de íons causa alterações nas reações metabólicas do micro-organismo, uma vez que altera o estado de ionização das cadeias laterais de aminoácidos e, por conseguinte, a atividade de proteínas; transporte intermembranar de moléculas, devido alterações no equilíbrio do gradiente eletroquímico total; stress oxidativo e turgor (inchamento) da célula (ORIJ, BRUL, SMITS, 2011; PALMA, GUERREIRO, SÁ-CORREIA, 2018; STRATFORD et al., 2013).

Tais efeitos são inversamente proporcionais ao pH do meio, assim, quanto menor seu valor, maior é o efeito antimicrobiológico do composto (AZEREDO et al., 2016; BENSID et al., 2020). Diferentemente do que se é observado para o pH do meio, o pH intracelular desempenha efeito proporcional a atividade antimicrobiológica dos ácidos orgânicos fracos e, portanto, quanto menor for esse pH, menor será a atividade desempenhada por esses compostos, como observam Fernández-Niño et al. (2015), em seu estudo com *Saccharomyces cerevisiae* frente ao ácido acético.

Além da qualidade microbiológica, outro fator que demanda atenção das indústrias do setor alimentício é o aumento da estabilidade do produto, envolvendo aspectos de frescor e atratividade, por um período maior (SOUTO et al., 2012). Diante disso, emprega-se aditivos estabilizantes. Esses compostos podem ser definidos como substâncias coloidais hidrofílicas, podendo ser naturais ou sintéticas, neutras ou iônicas e polissacarídeos ou proteínas quanto a

sua natureza iônica e química, respectivamente. Dentre suas aplicabilidades, esses compostos podem ser utilizados como precursores da formação de espumas, além de estabilizá-las (MUDGIL, BARAK, 2018; SOUTO et al., 2012).

3.7.2 Pasteurização

Segundo a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), a pasteurização é um método de conservação que faz o emprego de temperaturas altas menores que 100 °C e tem como foco a destruição dos micro-organismos patogênicos e parcialmente as formas vegetativas de outros micro-organismos, eximindo-se os endósporos de ambos. Devido a isso, são utilizados métodos complementares, como aditivos, refrigeração e embalagens modificadas, para se preservar os alimentos. (OPAS, 2019).

A organização também ressalta que os objetivos da pasteurização podem ser diferentes quanto a categoria dos alimentos. Em alimentos pouco ácidos, $\text{pH} > 4,5$, os micro-organismos patogênicos são os principais alvos, enquanto que em alimentos ácidos, $\text{pH} < 4,5$, como a sidra, o foco principal é a destruição de micro-organismos deteriorantes e inativação de enzimas. Em ambos casos, esse processo térmico infere mudanças nas características sensoriais e nutricionais do alimento, como a cor e perda da atividade antioxidante (COTTICA et al, 2015; GONZÁLEZ-MONROY et al., 2018).

Tratamentos alternativos a pasteurização vem sendo desenvolvidos e cada vez mais estudados para diminuir os danos causados pela temperatura, como a alta pressão, ultrassom, campo elétrico pulsado, irradiação UV e fluido supercrítico (MARTIN-BELOSIO, SOBRINO-LÓPES, 2011; TORTOI, BORBA, 2013; YUK, GEVEKE, ZHANG, 2010). Embora a sidra possa ser submetida a esses tratamentos alternativos, sozinhos ou combinados, os mesmos apresentam limitação de processo, como eficácia e maior custo, quando comparados aos tratamentos térmicos, sendo esses os mais indicados para reduzir a população de micro-organismos na bebida, como revisou Rawson et al. (2011).

Rabie et al. (2014) analisaram as propriedades físico-químicas do suco de physalis (*Physalis peruviana* L.) em quatro pontos (0, 7, 14 e 21 d). Os autores submeteram a bebida a uma pasteurização nas condições de 90 °C 10 min-1 em banho-maria e obtiveram um aumento de sólidos solúveis, pH, proporção de açúcar/ácido e viscosidade e diminuição de acidez titulável, turbidez e carotenoides, em comparação com o suco não submetido a esse tratamento. Quanto aos compostos fenólicos totais, observou-se que não houve diferença significativa entre os sucos, entretanto, a capacidade de eliminação do radical DPPH e teor de vitamina C foram

reduzidos após a pasteurização. Além disso, o tratamento térmico desencadeou alterações positivas na cor, sabor, gosto e aceitabilidade geral da bebida, sendo apenas a sensação na boca afetada negativamente.

Techakanon e Venkatachalam (2021), elaboraram uma bebida fermentada de jambo rosa que foi submetida a duas condições de pasteurização, A (63 °C 15 s-1) e B (71 °C 6 s-1). O estudo mostrou que as condições de pasteurização surtiram diferentes efeitos na bebida. O controle sofreu uma queda e aumento acentuados no teor de sólidos solúveis e no teor alcoólico, respectivamente. A apresentou uma queda moderada no teor de sólidos solúveis totais e leve aumento no teor alcoólico, enquanto que B apresentou teores praticamente constantes para esses parâmetros; pH e acidez titulável, as amostras tratadas se apresentaram similares e tiveram um pequeno decréscimo e aumento, respectivamente, comparadas às determinações no tempo 0, por outro lado, o controle demonstrou, respectivamente, uma queda e aumento significativos nesses parâmetros. Alterações na viscosidade e condutividade também foram observadas. Nas condições B, a atividade antioxidante, teor de vitamina C e fenóis totais foram mais severamente afetados comparados às condições e a bebida nessas condições foi menos aceita em comparação com a obtida nas condições A e as amostras não se diferiram estatisticamente quanto a eliminação de micro-organismos.

Alterações causadas pelo calor, conforme demonstrado acima, variam de acordo com cada tipo de matéria-prima; podendo ter resultados que satisfaçam tanto os anseios da segurança do alimento, quanto os anseios sensoriais, ou não. Todavia, observou-se que houve diminuição de compostos de interesse nos alimentos, como vitamina C e polifenóis. Para se evitar essas perdas pelo calor, novas formas de aplicação vêm sendo utilizadas, como aquecimento ôhmico (ACHIR et al., 2016; HASHEMI, GHOLAMHOSSEINPOUR, NIAKOUSARI, 2019; MÜLLER et al., 2021) e micro-ondas (SALAZAR-GONZÁLEZ et al., 2014; SIGUEMOTO et al., 2018; SIGUEMOTO et al., 2019).

Azeredo (2012) aborda que o emprego de calor na conservação de alimentos deve seguir o binômio tempo-temperatura para destruir (inativar) os micro-organismos patogênicos e deteriorantes que apresentem maior resistência ao tratamento, e que essas condições sejam as suficientemente mais brandas para tal resultado em virtude de se causar as menores perdas nutricionais e sensoriais do mesmo.

Esta autora ainda menciona que a relação entre tempo-temperatura é dada pelo valor D (tempo de redução decimal, que é dado pela temperatura, para se reduzir a sua população inicial em 90%) e pelo valor Z (definido como o aumento de temperatura necessário para reduzir D em 10 vezes, e é específico para cada micro-organismo). E que a taxa de inativação e a quantidade

de micro-organismos não inativados é constante, se mantida a mesma temperatura. A escolha desses parâmetros se dá a partir do micro-organismo, provavelmente presente, mais resistente daquele alimento.

Em alimentos líquidos, os métodos de pasteurização mais comumente empregados são em lote (ou batelada), onde deve-se levar em consideração o tempo de aumento da temperatura do meio, tempo de aquecimento para que o ponto frio do alimento entre em equilíbrio térmico, tempo de espera isotérmico e o período de imediato resfriamento (BHALERAO, CHAKRABORTY, 2021; DHAR, BHALERAO, CHAKRABORTY, 2021); baixa temperatura e tempo longo (LTLT), onde as temperaturas usadas são em torno de 63°C e o tempo de processo é de, no mínimo, 30 min; e alta temperatura e tempo curto (HTST), que utiliza temperaturas por volta de 72 °C e o tempo não excede 20 s (CHEN, YU, RUPASINGHE, 2013).

Existem diferentes maneiras de se fazer o emprego de calor na sidra. Merwin, Valois e Padilla-Zakour (2008) abordam que a bebida pode ser pasteurizada de duas diferentes formas. A primeira se caracteriza pelo emprego de calor na bebida ainda não envazada. Nesse processo, ocorrerá a perda da carbonatação devido a redução da solubilidade do gás com o aumento da temperatura, entretanto, permite que se faça a filtração da biomassa que, posteriormente, causaria a turvação da bebida. A segunda forma é dada pelo aquecimento do produto já envasado, que permite a estabilidade da carbonatação natural da bebida, além disso, nesse processo, a bebida poderá apresentar sabor de cozido mais acentuado e formação de biomassa precipitada.

3.8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A maçã configura-se entre as frutas mais produzidas mundialmente e possuem capacidade de transformação industrial em produtos derivados, como a sidra, que tem potencial para aumentar o valor agregado da matéria-prima.

A sidra, apresenta grande potencial mercadológico uma vez que abrange públicos, como as pessoas celíacas, em que, de forma geral, suas necessidades não são pelos produtos convencionais. E a sua microbiota diversa pode causar alterações significativas na qualidade sensorial e nutricional da bebida. Não obstante, seu baixo teor alcoólico não constitui uma barreira eficiente contra micro-organismos patogênicos, comprometendo, portanto, a segurança da bebida.

Com isso, torna-se necessário que a sidra passe por tratamentos adequados, como a

pasteurização e a adição de conservantes, para garantir a estabilidade microbiológica e aumento da sua validade comercial com as menores perdas sensoriais possíveis, garantindo, então, sua segurança e qualidade e aceitação pelo consumidor.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

As maçãs da cultivar Gala e da cultivar Granny Smith, obtidas no comércio local de Ponta Grossa (Paraná, Brasil) foram utilizadas nos experimentos.

Hipoclorito de sódio (Vitta Pury), enzimas pectinolíticas (Pectinex® Ultra Clear, LNF Bento Gonçalves, Brasil), *Saccharomyces cerevisiae* Reims (Fermol Reims Champagne, referência PB 2002, AEB Group, Italia), hidróxido de sódio (Vetec, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametocroman-2-carboxílico), ABTS (2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-ácido sulfônico), DPPH (2,2'-difeníl-2-picrilhidrazil), TPTZ (2,4,6-tripiridyl-s-triazine), cloreto férrico hexa hidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$), e o Folin-Ciocalteu foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA).

Os padrões fenólicos ácido cafeico (98%), (+)-catequina (98%), (-)-epicatequina (98%), procianidina B1 (98%), procianidina B2 (98%), ácido clorogênico (98%), ácido p-cumárico (98%), floridzina (99%) quercitina-3-D-galactosídeo (hiperosídeo) (97%), quercitina-3- β -D-glucosídeo (isoquercitina) (90%), quercitina-3-O-raminosídeo (quercitrina) (78%), quercitina-rutinosídeo (rutina) (94%) e quercitina-O- α -L-arabinofuranosídeo (avicularina) ($\geq 90\%$) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). Utilizou-se água ultra-pura (Milli-Q, Millipore, Brasil) para as soluções aquosas. Ácido acético ($\geq 99,7\%$) e acetonitrila (99,9%) foram provenientes da J. T. Baker (Phillipsburg, NJ, EUA).

Os padrões para a análise de açúcar foram os seguintes: D-glucose, sacarose, ambos com 99,0 % de pureza e adquiridos da Sigma Aldrich (Steinheim, Germany) e frutose, também com 99,0% de pureza, da Merck (Darmstadt, Germany).

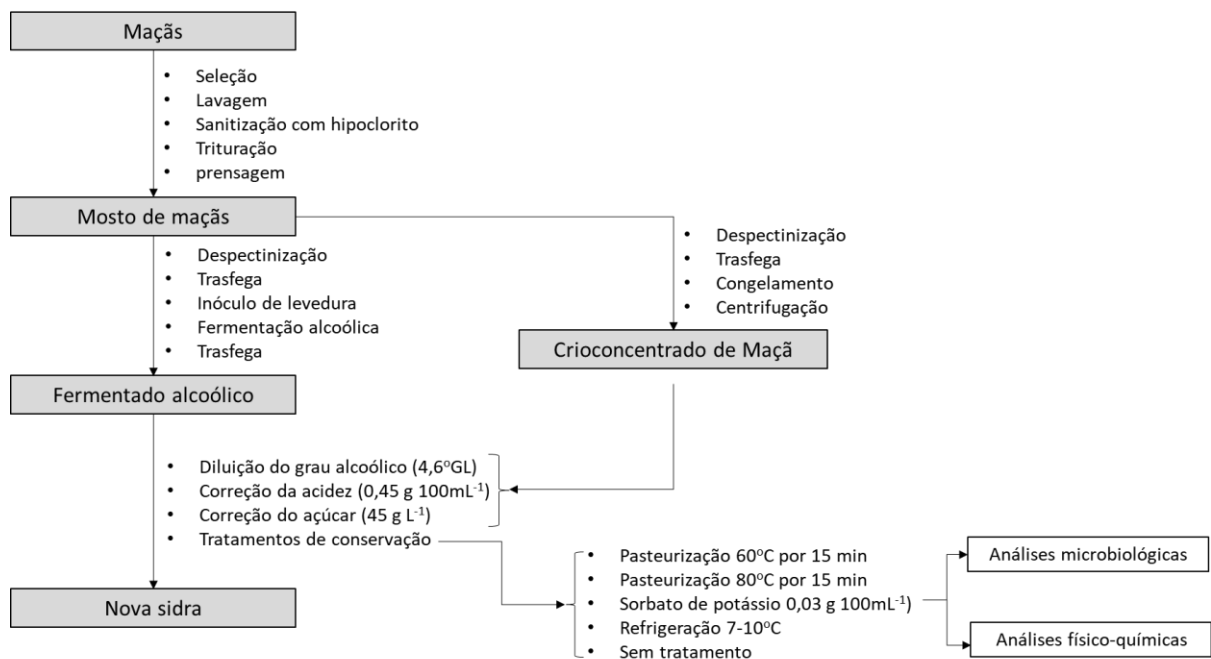
Para as análises microbiológicas, foram utilizados ágar *Salmonella Shigella* (SS) modificado (K25-610042, Kasvi, Brasil), ágar xilose lisina desoxicolato (XLD) (K25-610060, Kasvi, Brasil), ágar verde brilhante (VB) (K25-610009, Kasvi, Brasil), caldo tetrionato base (TT) (7241A, Acumedia®, Neogen®, EUA), caldo meio rappaport vassiliadis (RVS) (AG-6016, HiMedia®, Índia) e caldo lactose (K25-611202, Kasvi, Brasil) para a detecção de *Salmonella* spp.; peptona bacteriológica (RM 001-500G, HiMedia®, Índia) com adição de cloreto de sódio como meio para as diluições das demais análises microbiológicas. Para a detecção de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*, utilizou-se caldo lauril sulfato triptose (LST) (7142A, Acumedia®, Neogen®, EUA); a contagem de fungos e leveduras totais decorreu em ágar batata dextrose (K25-1022, Kasvi, Brasil) acidificado com ácido tartárico e a contagem de

bactérias lácticas se deu em ágar MRS (Kasvi, Brasil).

4.2 MÉTODOS

As etapas de desenvolvimento da bebida e da dissertação estão apresentadas na Figura 4, por meio de um fluxograma, e posteriormente detalhadas nas seções seguintes.

Figura 4: Protocolo de fabricação da nova sidra com destaque para os tratamentos de conservação utilizados no projeto



Fonte: O autor.

4.2.1 Processamento

4.2.1.1 Sanitização das maçãs

As frutas selecionadas (sem defeitos fitopatológicos) foram submetidas a um enxague com água potável a fim de se retirar sujidades superficiais. Em seguida, as mesmas foram sanitizadas através de imersão em hipoclorito de sódio na concentração de 150 mg L^{-1} durante 20 minutos a $\pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$ e, posteriormente, um novo enxague em água potável foi realizado (GOMES et al., 2014; ALBERTI et al., 2016).

4.2.1.2 Sidra base

Elaborou-se a sidra base (SB) conforme adaptação do procedimento de Alberti et al. (2016), utilizando-se as maçãs cultivar Gala. Resumidamente, 36,8 kg dessas maçãs foram triturados e prensadas em um triturador (Triturador prensa à frio, AGM, SC, Brasil) a 294 kPa 5 min⁻¹ resultando em 26,12 L de mosto de maçã, que representa 72,7% de rendimento, com teor de sólidos solúveis de 122 g L⁻¹. O mosto de maçã foi despectinizado com a adição de enzimas pectinolíticas (Pectinex® Ultra Clear, LNF Bento Gonçalves – Novozymes Latin America, Araucária, Brasil) na concentração de 3,0 mL hL⁻¹ a 25 ± 2 °C durante 2 h e depois trasfegado. O mosto de maçã despectinizado foi transferido para um fermentador em aço inox 304 AISI, com volume total de 30 L e útil de 25 L, com controle de temperatura, resistente a pressão de 9 bar, válvula de segurança e sistema de gaseificação descrito e depositado no INPI sob a patente BR 10 2015 010037 0. Nesse recipiente, foi inoculado uma suspensão de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* Reims (Fermol Reims Champagne, referência PB 2002, AEB Group, Itália) na concentração de 2,0 x 10⁶ células mL⁻¹. Conduziu-se a fermentação alcoólica a 20 °C durante 21 d e, após esse período, a sidra foi trasfegada e armazenada a 10 °C. A sidra base apresentou 6,75 ± 0,07 % (v v⁻¹) de álcool.

4.2.1.3 Suco crioconcentrado

Foi utilizado 13 L de mosto de maçãs da cultivar Granny Smith, com teor de sólidos solúveis de 12 g 100 mL⁻¹, previamente despectinizado e congelado em recipientes com tampas a -18 °C (Freezer Metalfrio, Brasil). Porcionou-se o bloco de mosto congelado em blocos de menor tamanho que posteriormente foram embalados em um tecido de molin e centrifugados (Centrífuga Arno, Brasil) a 988 g até que o gelo residual contivesse teor de sólidos solúveis em torno de 1 a 2 °Brix. Desse processo, obteve-se 6,2 L de mosto crioconcentrado com teor de sólidos solúveis de 24,6 g 100 mL⁻¹ e o mosto foi congelado novamente por dois dias. Após esse período, efetuou-se uma nova crioconcentração, onde se obteve 3,1 L de mosto crioconcentrado com teor de sólidos solúveis de 52 g 100 mL⁻¹ e acidez total de 28,11 g de ácido málico L⁻¹ (28,11 g MA L⁻¹). Este mosto crioconcentrado foi utilizado na padronização da sidra final a fim de se corrigir o seu teor de açúcares, aromas, cor, acidez e adstringência (ZIELINSKI et al., 2019).

4.2.1.4 Sidra final

Para a formulação da sidra final, utilizou-se a sidra base, e o suco crioconcentrado (LOS et al., 2017; ZIELINSKI et al., 2019). Após medir o volume de sidra base e do crioconcentrado, bem como do teor alcoólico da sidra base, misturou-se, então, os componentes. Adicionou-se mosto crioconcentrado e água deionizada a bebida até que o teor de sólidos solúveis atingisse 45 g L^{-1} e teor alcoólico de $4,6 \text{ }^\circ\text{GL}$.

A sidra formulada foi separada em cinco grupos diferentes, sendo dois não tratados, dois tratamentos térmicos e um tratamento químico. As sidras foram envasadas em garrafas resistentes à pressão de vidro verde de 750 mL, tampadas com rolha plástica, lacradas com gaiolas metálicas e armazenadas verticalmente. Os grupos não tratados foram utilizados como controles, um armazenado em condições ambientais ($11-28,2 \text{ }^\circ\text{C}$), denominado “CA” e outro sob refrigeração ($7 \text{ a } 10 \text{ }^\circ\text{C}$), atribuído como “CR”.

4.2.2 Tratamento Térmico

A fim de se minimizar alterações sensoriais que causam impacto negativo, temperaturas mais brandas foram escolhidas (PIYASENA, MCKELLAR, BARTLETT, 2003). A pasteurização ocorreu seguindo-se, com modificações, os métodos de Splittstoesser, Mclellan e Churey (1996), Buchanan e Edelson (1999) e Janzanti, Franco e Wosiacki (2003).

As amostras foram separadas em dois grupos. O primeiro foi submetido à condição de $60 \text{ }^\circ\text{C}$ em banho-maria durante 15 min, constituindo as amostras denominadas de “P60” e o outro grupo, denominado “P80”, a condição $80 \text{ }^\circ\text{C } 15 \text{ min}^{-1}$, também em banho-maria. Em ambos grupos, o tempo somente foi cronometrado a partir do momento que o ponto frio do sistema, previamente determinado em uma mistura hidroalcoólica com mesmo teor alcoólico e de açúcar das amostras, atingiu a temperatura de interesse: 29 min para a condição de $60 \text{ }^\circ\text{C}$ e 19 min para a de $80 \text{ }^\circ\text{C}$. Em seguida, ao tratamento térmico, as amostras foram resfriadas à 25°C . Neste momento, após um período de estabilização (6h) foram realizadas as análises microbiológicas e físico-químicas. Os resultados foram comparados com os demais tratamentos.

4.2.3 Tratamento Químico

Para esse tratamento, foi adicionado à bebida o sorbato de potássio, na concentração de $0,03 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$, conforme permitido pela legislação vigente (Resolução nº 04 de 24 de

novembro de 1988 – Ministério da Saúde) e constituiu as amostras denominadas de “S”.

4.2.4 Monitoramento Físico-Químico

Após tratadas, as sidras foram monitoradas por 180 d. Análises foram feitas nos dias 0, 30, 60 e 180. Foram analisados: teor de açúcar e glicerol, densidade, pH, acidez, teor alcoólico, conteúdo fenólico total, perfil fenólico, atividades antioxidantes *in vitro* e a cor das sidras. As determinações foram feitas em triplicata, com exceção do conteúdo fenólico total e das atividades antioxidantes *in vitro*, onde foram feitas cinco a nove replicatas. O perfil fenólico foi analisado apenas nos dias 0, 30 e 60.

4.2.4.1 Açúcares e glicerol

Foi utilizado o método de Santos et al. (2018) para as determinações de açúcares e glicerol. As amostras foram diluídas, com água ultrapura (Milli-Q Integral®, Millipore®, São Paulo SP, Brazil). As amostras foram filtradas em filtro seringa de nylon de 0,22 μm (Waters, Milford, MA, EUA) e transferidas para *vials*. A análise foi feita em um sistema Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (Waters 2695 Alliance, Milford, MA, EUA) composto por um detector de índice de refração (RI 2414, Milford, MA, EUA), um detector de matriz de fotodiodo (PDA 2998, Milford, MA, EUA) e um detector de fluorescência (FLD 2475, Milford, MA, EUA), uma bomba quaternária (Waters 2695 Alliance, Milford MA, EUA), degaseificador e auto injetor. Utilizando-se uma coluna Bio-Rad HPX 87H (300 \times 7.8 mm) em condição isocrática de uma solução aquosa de 0,006 M de ácido sulfúrico com volume de injeção de 10 μL e taxa de fluxo de 0,5 mL min^{-1} com a coluna aquecida e mantida a 30 $^{\circ}\text{C}$. A detecção dos açúcares se deu por meio de comparação dos tempos de retenção dos padrões e a quantificação calculada a partir de curva padrão dos padrões conforme a Tabela 5. Os resultados foram expressos pela média de três determinações.

Tabela 5: Parâmetros cromatográficos dos padrões de açúcares e glicerol utilizados

Composto	Tempo de retenção	Regressão linear	R ²	LOD*	LOQ*
Sacarose	8,00	$y = 8.10^6x + 83246$	0,986	0,01	0,03
Glucose	9,70	$y = 9.10^6x - 37747$	0,992	0,004	0,01
Frutose	12,18	$y = 9.10^6x - 75598$	0,993	0,004	0,01
Glicerol	16,20	$y = 8,13.10^6x - 152510$	0,999	0,0002	0,0005

Nota 1: LOD: limite de detecção; LOQ: limite de quantificação; *: $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Nota 2: As curvas dos padrões foram elaboradas com concentrações de 0,1 a 1,0 g 100 mL^{-1} .

4.2.4.2 Densidade

A densidade das amostras foi obtida por meio de um densímetro digital de exatidão $5 \times 10^{-6} \text{ g cm}^3$ (DMA 4500M, Anton Paar, Graz, Áustria). Os resultados foram expressos em g cm^3 .

4.2.4.3 pH

O pH foi determinado por meio do auxílio de um pHmetro (pH 21 meter, Hanna, Cotia, Brasil).

4.2.4.4 Acidez total e volátil

A análise de acidez total e volátil foi a mesma descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). Os resultados foram calculados pelas equações (1) e (2), dados pela média de três determinações e expressos em g ácido málico L^{-1} e em g ácido acético L^{-1} , respectivamente. A acidez também foi calculada em mEq L^{-1} , como exige a legislação brasileira, a partir da equação (3).

$$\text{Acidez total} = \frac{n \cdot M \cdot f \cdot PM}{10 \cdot V} \quad (1)$$

$$\text{Acidez volátil} = \frac{n \cdot M \cdot f \cdot F}{V} \quad (2)$$

Onde: n é volume (mL) gasto de hidróxido de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; M é a molaridade da solução de hidróxido de sódio; f é o fator de correção dessa solução (0,9677), PM é o equivalente grama do ácido málico (67,04 g); F é o fator de conversão para o ácido acético (0,6005) e V é o volume de amostra.

$$\text{Acidez total/volátil} \left(\frac{\text{mEq}}{\text{L}} \right) = \frac{V \cdot N \cdot f \cdot 1000}{v} \quad (3)$$

Onde: V é o volume de hidróxido de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; N é a normalidade da solução; f é o fator de correção da solução de hidróxido de sódio e v é o volume da amostra.

4.2.4.5 Teor alcoólico

Determinou-se o teor alcoólico por meio de ebulliômetro (010154, Techvision, Brasil).

4.2.4.6 Conteúdo fenólico total

Para a determinação do conteúdo fenólico total, seguiu-se a método proposto por Singleton e Rossi (1965), com pequenas adaptações. Verteu-se 4,2 mL de água destilada, 50 μL de amostra e 250 μL de reagente Folin-Ciocalteu 0,2M em um tubo de ensaio e o sistema permaneceu em repouso por 3 min. Ao término desse período, adicionou-se 500 μL de solução de carbonato de cálcio a 20 % (m v⁻¹), submeteu o sistema a agitação em um vórtex (Vision Scientific CO. LTD., Coreia) e reservou-o em local ao abrigo de luz por 1 h. Posteriormente, foi transferido 300 μL dessa solução para microplacas (96 poços, com volume de 300 μL cada poço e de fundo reto) e leu-se as absorbâncias das amostras em um espectrofotômetro de microplacas (Epoch, Synergy-BioTec, Winooski, VT, EUA) ao comprimento de onda de 720 nm. Os resultados foram obtidos por meio da curva padrão ($y = 0,0004x + 0,002$; $R^2 = 0,9975$) de ácido clorogênico (20 – 200 mg L⁻¹) e expressos em mg equivalentes de ácido clorogênico L⁻¹ de amostra. As sidras foram diluídas com água deionizada.

4.2.4.7 Atividades antioxidantes in vitro

Determinou-se a atividade antioxidante pelo sequestro do radical ABTS (RE et al., 1999), pelo poder antioxidante da redução do ferro – FRAP (BENZIE, STRAIN, 1996) e pela eliminação do radical DPPH (BRAND-WILLAMS, CUVÉLIER, BERSET; 1995). Os resultados foram expressos em μmol de Trolox por litro de bebida (sidra ou mosto de maçã crioconcentrado) ($\mu\text{mol TE L}^{-1}$). As amostras foram lidas em um leitor de microplacas (Epoch, Synergy-BioTec, Winooski, VT, EUA). As sidras foram diluídas com água deionizada.

Para o método de sequestro do radical ABTS, preparou-se uma solução de ABTS 7 mM e uma de persulfato de potássio 2,45 mM. As soluções, então, foram misturadas na proporção de 1:1. Alocou-se a solução resultante sob abrigo de luz por 16 h e em temperatura ambiente (25°C). Em seguida, em balão volumétrico, verteu-se 4,5 mL dessa solução e se completou até 250 mL com água destilada, possuindo uma absorbância mínima de 0,7 em comprimento de onda de 734 nm. Adicionou-se 20 μL de cada amostra e 280 μL da solução de ABTS em uma microplaca (acrílica de 96 poços, com volume de 300 μL cada poço e de fundo reto), que foi deixada ao abrigo da luz por 30 min. Efetuou-se a leitura das amostras, em comprimento de onda de 734 nm, e o cálculo dos resultados, a partir da curva padrão ($y = 0,2443x - 0,0799$; $R^2 = 0,9865$) elaborada por meio de diferentes concentrações de Trolox (100 – 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$).

Para o método FRAP, primeiro, elaborou-se três soluções: o tampão acetato 300 mM de pH 3,6 (3.1 g $C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$) e 16 mL de ácido acético por litro de solução tampão), a solução 10 mM de TPTZ em 40 mM HCl e a solução de 20 mM de cloreto férrico hexa hidratado. Preparou-se o reagente FRAP adicionando as soluções na proporção 10:1:1 ($v v^{-1} v^{-1}$). Para a análise, despejou-se 290 μ L dessa solução recém preparada e 10 μ L de amostra em uma microplaca (acrílica de 96 poços, com volume de 300 μ L cada poço e de fundo reto), que, posteriormente, foi alocada em repouso ao abrigo da luz durante 30 min. Decorrido o tempo, fez-se a leitura das absorvâncias no comprimento de onda de 593 nm. Calculou-se, então, a atividade antioxidante das amostras por meio de curva padrão ($y = 0,0012x + 0,0124$; $R^2 = 0,9954$) de Trolox (100 – 600 μ mol L^{-1}).

Para o método DPPH utilizou-se uma solução elaborada a partir de metanol e DPPH com concentração final de 125 μ mol L^{-1} . Completou-se tubos com 1,9 mL da solução e 50 μ L de amostra. O sistema permaneceu em repouso por 30 min protegido da luz e posteriormente, 300 μ L foram transferidos para uma microplaca (acrílica de 96 poços, com volume de 300 μ L cada poço e de fundo reto), e lidos no comprimento de onda de 515 nm. Os resultados foram obtidos a partir da curva padrão ($y = 0,0662x + 0,2067$; $R^2 = 0,9877$) de Trolox (100 – 500 μ mol L^{-1}).

4.2.4.8 Perfil fenólico

Inicialmente, congelou-se 25 mL de cada amostra a -86 °C (NUAIRE, NU-9668GC, MN, EUA) e posteriormente as mesmas foram liofilizadas (Liofilizador, TERRONI LS3000, São Paulo, Brasil). As amostras foram reconstituídas adicionando-se 3 mL de uma solução de ácido acético 2,5% e metanol 99% na concentração de 3:1 ($v v^{-1}$) e filtradas em filtro seringa de nylon de porosidade 0,22 μ m (Waters, Milford, MA, EUA) e transferidas em *vials*. Analisou-se as amostras em sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), seguindo-se o método de Alberti et al. (2014).

O sistema CLAE (Waters 2695 Alliance, Milford, MA, EUA) é equipado com detector de matriz de fotodiodos PDA 2998 (Waters, Milford, MA, EUA), bomba quaternária e amostrador automático, coluna Symmetry C_{18} (4,6 x 150 mm, 3,5 μ m, Waters, Milford, MA, EUA) aquecida a 20°C. A fase móvel foi constituída de A, solução de ácido acético 2,5 % ($v v^{-1}$), e B, acetonitrila, deu-se da seguinte maneira: 3-9 % B (0-5 min), 9-16 % (5-15 min), 16-36,4% B (15-33 min), 36,4-100 % B (33-48 min) e acondicionamento da coluna 3 % B (10 min) nas condições de: fluxo 1,0 mL min^{-1} ; coluna a 20°C. As detecções foram feitas a 280 nm

para flavan- 3-ols e dihidrochalconas; a 320 nm para ácidos hidroxicinâmicos; e 350 nm para flavonóis. Identificou-se e se quantificou os compostos fenólicos das amostras comparando o tempo de retenção e espectro dos picos com os de padrões, conforme pode ser observado na Tabela 6.

Tabela 6: Dados cromatográficos dos padrões fenólicos utilizados

Composto fenólico	TR (min)	Banda UV (nm)	Regressão linear	R ²	LOD*	LOQ*
Ácido gálico	3,110	271,5	y=24519x-29541	0,998	0,78	2,35
Ácido clorogênico	9,212	326,2	y=25239x-13321	0,997	0,59	1,80
Ácido p-cumárico	15,522	310,7	y=61187x-85345	0,998	0,52	1,59
Ácido Cafeico	10,923	323,8	y=39960x+80223	0,984	0,07	0,20
(+)-catequina	8,713	279,8	y=5999x-9084	0,999	0,99	3,00
(-)-epicatequina	12,186	279,8	y=5729x+13748	0,992	3,34	10,13
Procianidina B2	10,170	279,8	y=5684,6x+6661	0,998	0,52	1,58
Floridzina	24,502	285,8	y=17194x-30986	0,997	1,28	3,86
Floretina	32,356	285,8	y=34406x-12344	0,999	0,33	0,99
Quercetina	23,482	376,2	y=19302x-20826	0,998	0,18	0,53
Quercetina-3-O- rutinosídeo	18,730	354,9	y=14303x-72994	0,998	0,50	1,52
Quercetina-3-D-galactosídeo	18,992	354,9	y=14225x-2367,6	0,999	0,29	0,89
Quercetina-3-β-D-glucosídeo	19,550	354,9	y=22090x-59247	0,998	0,03	0,08
Quercetina-3-O-arabinofuranosídeo	21,16	353,7	y=19875x-29203	0,998	0,29	0,89
Quercetina-3-O-raminosídeo	21,959	348,9	y=20504x-34187	0,989	0,15	0,46

Nota: TR: tempo de retenção; y = absorbância; x = concentração (mg L⁻¹); LOD: limite de detecção; LOQ: limite de quantificação; *: µg mL⁻¹.

4.2.4.9 Análise de cor

Analisou-se a cor das bebidas, utilizando-se um colorímetro (CM-5-ID, KONICA MINOLTA, Osaka, Japão) seguindo o método utilizado por Lee et al. (2016). Foram avaliados os parâmetros L*, a* e b*, onde L* é a claridade da amostra, -a* é verde, +a* é vermelho, -b* é azul e +b* é amarelo. Com esses valores, serão calculados seu ângulo Hue (tonalidade) (4), *chroma* (intensidade da cor) (5).

$$\text{ulo Hue } (^{\circ}H) = f(x) = \begin{cases} \text{arco tangente} \left(\frac{b^*}{a^*} \right), & \text{se } a > 0 \\ \text{arco tangente} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) + 180, & \text{se } a < 0 \end{cases} \quad (4)$$

$$\text{Intensidade da cor } (C) = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (5)$$

4.2.5 Monitoramento Microbiológico

Após tratadas, as sidras foram monitoradas por 180 d. Análises foram feitas nos dias 0, 30, 60 e 180. Foram realizadas análises para contagem de bactérias lácticas; coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* e fungos e leveduras totais e para detecção de presença ou ausência de *Salmonella* spp.. Para as análises de contagem de micro-organismos, foi utilizado água salina pipetada 0,1% (m v⁻¹) esterilizada como diluente, seguindo-se o anexo 2.2 do Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água (SILVA et al., 2010).

Os resultados dos ensaios de bactérias lácticas, fungos e leveduras totais foram calculados com base no método da contagem de micro-organismos em placas, descrita pela ISO 7218:2007 e os resultados dos ensaios de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* foram obtidos por meio do método de contagem de micro-organismos pelo Número Mais Provável (NMP), descrita no *Bacteriological Analytical Manual* (BLODGETT, 2006), ambos os métodos citados por Silva et al. (2010). Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) mL⁻¹ ou NMP mL⁻¹.

Para a contagem de bactérias lácticas, aplicou-se o método de contagem padrão em placas, realizando o plaqueamento em profundidade e com sobrecamada utilizando o ágar MRS e incubação em jarras de anaerobiose, seguindo-se o método descrito pela *American Public Health Association* (APHA) no 19º Capítulo da 4ª Edição do *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (HALL et al., 2001), citado por Silva et al. (2010). Os resultados da análise foram obtidos por meio da contagem de micro-organismos em placas.

Para os coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*, utilizou-se o método descrito no capítulo 8 da 4ª edição do *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods da APHA* (KORNACKI, JOHNSON, 2001), citados por Silva et al. (2010). Calculou-se os resultados da análise por meio do NMP.

A contagem de bolores e leveduras totais, foi realizado pelo método do capítulo 20 da 4ª edição do *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (BEUCHAT, COUSIN, 2001), citados por Silva et al. (2010). Empregou-se o ágar batata dextrose (PDA, sigla em inglês) acidificado com ácido tartárico 10% esterilizado por filtração até pH final 3,5 e os resultados foram calculados mediante contagem de micro-organismos em placas.

A presença ou ausência de *Salmonella* spp. foi verificada por meio do método revisado (2007) da *Food and Drug Administration* (FDA) presente no capítulo 5 do *Bacteriological Analytical Manual Online* (ANDREWS, HAMMACK, 2007), citados por Silva et al. (2010).

Para o plaqueamento diferencial, substituiu-se o ágar entérico de Hectoen (HE, sigla em inglês) e o ágar bismuto sulfito (BS) pelos ágares verde brilhante (BG, sigla em inglês) e Salmonella Shigella (SS).

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como a média e desvio padrão de três determinações, com exceção do conteúdo fenólico total e das atividades antioxidantes *in vitro*, onde os resultados foram expressos pela média de cinco ou mais repetições. Obteve-se as diferenças entre as amostras aplicando a Análise de variância (ANOVA, fator único) e teste de diferenciação de médias de Fischer LSD. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software *Statistica* 7.0 (Stat-Soft Inc., Tulsa, OK, EUA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA SIDRA BASE, SUCO CRIOCONCENTRADO DE MAÇÃ CV. GRANNY SMITH E SIDRA FINAL

De acordo com a Tabela 7, em primeiro momento, pode-se observar um esgotamento quase total dos carboidratos na fermentação da sidra base, remanescendo apenas 0,56 g (Tabela 7) dos 12,2 g 100 mL⁻¹ iniciais do mosto de maçã cv. Gala, demonstrando a eficiência da fermentação conduzida pela *Saccharomyces cerevisiae* na sidra. Resultados semelhantes foram encontrados por Bortolini et al. (2020), que ao final da fermentação do mosto de maçãs cv. Fuji, com e sem bagaço, obtiveram apenas um residual de 0,3 e 0,6 g 100 mL⁻¹ de frutose, respectivamente e Los et al. (2017) 0,003, 0,04 e 0,002 g 100mL⁻¹ para glucose, frutose e sacarose, respectivamente, para a cv. Gala. As variações podem ser explicadas pela diferença de cultivar, cepas de leveduras e tempo de fermentação. Somado a esses fatores, o estágio de maturação das maçãs também pode ser atribuído a essa diferença (ALBERTI et al., 2016).

O teor alcoólico de SB encontra-se semelhante aos de Carvalho et al (2010), que encontraram 6,90 °GL (ou 6,9 % m v⁻¹) para o fermentado de maçã cv. Gala e de Kliks et al. (2020), que compararam as fermentações de mostos puros de maçãs cvs. Idared, Cortland e Gala conduzidas a 15 e 20 °C durante 14 d, utilizando *S. cerevisiae*. Quanto as sidras obtidas a partir dos mostos da cv. Gala a 15 e 20 °C, os autores obtiveram um teor alcoólico de 6,38 e 6,56 % (v v⁻¹), respectivamente.

Tabela 7: Resultados físico-químicos médios das amostras Sidra Base e Crio.Suco Crioconcentrado de Granny Smith

Parâmetro analítico	Amostra		
	Sidra Base	Suco Crioconcentrado de maçã cv. Granny Smith	Sidra Final
Açúcares totais (g 100 mL ⁻¹)	0,564 ± 0,001	52,2 ± 0,3	4,476 ± 0,006
Sacarose (g 100 mL ⁻¹)	< LOD	8,35 ± 0,09	0,17 ± 0,01
Glucose (g 100 mL ⁻¹)	< LOD	13,2 ± 0,1	1,39 ± 0,01
Frutose (g 100 mL ⁻¹)	0,56 ± 0,01	30,6 ± 0,1	2,91 ± 0,01
Glicerol (g 100 mL ⁻¹)	0,38 ± 0,01	< LOD	0,29 ± 0,01
Teor alcoólico % (v v ⁻¹)	6,75 ± 0,07	-	4,6 ± 0,1
Densidade (g cm ⁻³)	0,99319	1,21458	1,01446
pH	3,79 ± 0,01	3,23 ± 0,02	3,55 ± 0,01
Acidez total (g MA L ⁻¹)	3,508 ± 0,007	28,11 ± 0,02	4,81 ± 0,05
Acidez volátil (g AC L ⁻¹)	1,0 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,86 ± 0,08
TFC (mg CAE L ⁻¹)	496 ± 8	5440 ± 80	870 ± 26
FRAP (µmol TE L ⁻¹)	734 ± 6	11996 ± 214	1911 ± 30
DPPH (µmol TE L ⁻¹)	546 ± 44	4755 ± 85	1217 ± 17
ABTS (µmol TE L ⁻¹)	1061 ± 60	13024 ± 97	2923 ± 134
L*	91,07 ± 0,01	80,9 ± 0,03	93,98 ± 0,3
a*	-0,71 ± 0,006	12,62 ± 0,02	-1,13 ± 0,03
b*	39,3 ± 0,1	74,60 ± 0,09	30,56 ± 0,07
°Hue	88,70 ± 0,01	80,40 ± 0,03	92,11 ± 0,05
Chroma	39,3 ± 0,1	75,66 ± 0,08	30,58 ± 0,07

Nota 1: <: Menor que; LOD: Limite de detecção; TFC: Compostos fenólicos totais; MA: Ácido málico; AC: Ácido acético; CAE: Equivalente de ácido clorogênico; TFC: Conteúdo fenólico total; TE: Equivalente de trolóx; L*: luminosidade; a*: Parâmetro de cor verde/vermelho; b*: Parâmetro de cor azul/amarelo.

Nota 2: Resultados expressos como média ± desvio padrão.

SB apresentou pH ligeiramente superior aos pHs encontrados em sidras monovarietais de maçãs de mesa cv. Breaburn, Granny Smit e Golden Lasa com pHs de 3,38; 3,33 e 3,47, nessa ordem (NICOLINI et al., 2018); e semelhante aos das cv. Pink Lady, Royal Gala e Red Delicious com pHs de 3,7; 3,6 e 3,7, respectivamente (GIRSCHIK et al., 2017); Fuji com pH de 3,8 (BORTOLINI et al., 2020); Gala com pHs de 4,0 (SANTOS et al., 2018) e de 3,38 a 3,80 por Wei et al. (2019) conforme a levedura utilizada, sendo que, para *S. cerevisiae*, o pH obtido pelos autores foi de 3,69. Entretanto suas acidez total e volátil encontraram-se acima dos obtidos por Carvalho et al. (2010), onde a sidra elaborada a partir maçãs cv. Gala com processo fermentativo conduzido a 20-27 °C por 10 d apresentou, respectivamente, 0,23 g MA 100 mL⁻¹ (ou 2,3 g MA L⁻¹) e 0,02 g AC 100 mL⁻¹ (ou 0,2 g AC L⁻¹). Essas diferenças podem ser explicadas pelo estágio de maturação das frutas (ALBERTI et al., 2016), pelo de tempo das fermentações e provável desenvolvimento de uma fermentação malolática, uma vez que Dierings et al. (2013) ao analisar as sidras obtidas da mesma cultivar, nas condições de 24,9-30,7 °C por 45 d, observaram um aumento de ácido láctico e da acidez a partir do décimo dia de fermentação e ao final dos 45 d a acidez total foi de 3,2 g MA L⁻¹ e a acidez volátil de 0,91 g AC L⁻¹.

Quanto a atividade antioxidante de SB, a amostra apresentou valores semelhantes aos

encontrados por Silva et al. (2019), onde os autores obtiveram atividade antioxidante para a sidra obtida de maçã cv. Gala maduras de $777 \mu\text{mol TE L}^{-1}$, pelo método FRAP. Os autores também observaram que o processo de fermentação conduzido a 20-23 °C e com inóculo de *S. cerevisiae* r.f. *cerevisiae* Fermol Bouquet causou alterações nas atividades antioxidantes dos mostos das bebidas. Valores similares também foram encontrados por Bortolini et al. (2020), onde os autores obtiveram atividades antioxidantes de 637 e 820 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ para DPPH e FRAP, respectivamente, para a sidra obtida de maçãs cv. Fuji. Entretanto, a atividade antioxidante pelo método ABTS foi substancialmente menor, com valor de 471 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$. Essas diferenças nas atividades antioxidantes podem estar relacionadas diferente à composição das sidras e, também, a fermentação malolática (WU et al., 2020).

Os parâmetros de cor de SB se assemelharam aos encontrados por Benvenuti et al. (2019) em sidras de maçã cb. Fuji, onde os autores obtiveram $L^* = 92,10$; $a^* = -1,2$; $b^* = 27,9$; $^{\circ}\text{hue} = 92,38$ e $\text{Chroma} = 27,9$. Os autores também observaram que os valores dos parâmetros L^* e $^{\circ}\text{hue}$ diminuía e que os valores de a^* , b^* e Chroma aumentava conforme a adição de extratos fenólicos na sidra.

Quanto a amostra Crio, houve um aumento de 4,35 vezes na concentração de açúcares totais em dois ciclos. Resultados semelhantes foram encontrados por Orellana-Palma et al. (2020), onde os autores crioconcentraram suco de maçã cv. Red Fuji com 13,9 °Brix (ou $\sim 13,9 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$) iniciais e obtiveram, ao fim do terceiro ciclo de crioconcentração, 54,9 °Brix (ou $\sim 54,9 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$), resultando em um aumento de 3,95 vezes. Hernández et al. (2009) crioconcentraram sucos de maçã e de pêra, com 14,5 e 13 °Brix (ou $\sim 14,5$ e $\sim 13,0 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$), respectivamente, em um equipamento semi-industrial de placas, e obtiveram suco de maçã com 30,2 °Brix (ou $\sim 30,2 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$) e de pêra de 30,8 °Brix (ou $\sim 30,8 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$), resultando em concentração de 2,08 e 2,37 vezes, respectivamente, mostrando que o processo de crioconcentração está ligado a matéria prima e ao método utilizado. Além disso, conforme esperado, sua densidade aumentou.

Sabendo-se que Crio teve uma concentração de 4,35 vezes, pode-se apontar que, teoricamente, o suco de maçã cv. Granny Smith utilizado teria em torno de 1,92 g de sacarose 3,03 g de glucose e 7,03 g de frutose. Resultados semelhantes foram encontrados por Yi et al. (2017), que obtiveram 16,8, 6,5 e 61,9 mg mL^{-1} (ou 1,68 e 6,19 $\text{g } 100 \text{ mL}^{-1}$) de sacarose, glucose e frutose, respectivamente, para a mesma cultivar e Stander et al. (2021) encontraram 29,7, 35,4 e 62,7 g L^{-1} (ou 2,97, 3,54 e 6,27 $\text{g } 100 \text{ mL}^{-1}$) de sacarose, glicose e frutose, nessa ordem. Por fim, frutose representou 58,68 % dos açúcares, seguida da glucose com 25,31 % e da glucose com 16,01 %.

Carvalho et al. (2010), observaram que após a crioconcentração do suco de maçã cv. Gala, a acidez titulável aumentou de 0,25 para 0,70 g MA 100 mL⁻¹ (ou 2,5 para 7,0 g MA L⁻¹). Yi et al. (2017) obtiveram pH 3,49 para o do suco de maçãs cv. Granny Smith, estando acima do obtido por Crio (3,23). Orellana-Palma et al. (2020) ao crioconcentrarem suco de maçã cv. Red Fuji, obtiveram redução significativa ($p < 0,05$) no pH, partindo de 3,5 para 3,1 ao fim do processo, coincidindo com a alta da sua acidez total, que aumentou, significativamente ($p < 0,05$) de 2,3 para 3,0 g MA L⁻¹. Desse modo, o processo de crioconcentração também acarretou em um aumento da acidez total, sendo ocasionada pelo aumento do teor de ácidos orgânicos, como o ácido málico, conforme relataram Khajehei et al. (2015) ao estudarem a crioconcentração de suco de romã.

Quanto ao teor de compostos fenólicos totais, Zielinski et al. (2019) submeteram o suco de maçã cv Granny Smith padronizado em 12,5 °Brix (~12,5 g sólidos solúveis 100 mL⁻¹) ao processo de crioconcentração e obtiveram aumento significativo ($p < 0,01$) na concentração desses compostos, partindo de 873 para 3.353 mg CAE L⁻¹ para o suco com 46 °Brix (~46 g de sólidos solúveis 100 mL⁻¹). Os resultados encontrados no presente trabalho encontram-se substancialmente maiores que os encontrados pelos autores, mesmo quando comparados proporcionalmente a 52 °Brix. Os autores obtiveram, também, um aumento significativo na atividade antioxidante dos sucos após a crioconcentração, onde, inicialmente, FRAP, DPPH e ABTS resultaram, nessa ordem, em 861, 1025 e 1468 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$ e após o processo, em 8708, 5464 e 10624 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$, respectivamente. As diferenças nas atividades antioxidantes podem estar relacionadas a retenção de compostos fenólicos na fração de gelo, como observaram Haas et al. (2022) em seu estudo sobre a crioconcentração de suco de laranja (*Citrus sinensis* L.) e com a safra das maçãs, como notaram Bedriñana, Lobo e Valles (2019), ao analisar o suco crioconcentrado obtido de maçãs de mesma cultivar, mas de diferentes safras (2013, 14 e 15), onde obtiveram diferenças significativas ($p < 0,01$) em seu conteúdo fenólico total.

Quanto aos parâmetros de cor de Crio do presente trabalho, os valores se assemelham aos encontrados por Zielinski et al. (2019), que observaram uma constante redução na luminosidade (L^*) e no ângulo *hue* (°HUE), obtendo, nessa ordem, valores de 80,63 e 82,12 e um aumento crescente nos parâmetros a^* , b^* e Chroma, com valores de 11,35, 82,02 e 82,80, respectivamente, ao final da crioconcentração. As mudanças na coloração do suco crioconcentrado pode ser explicada pelas reações enzimáticas da polifenoloxidase, uma vez que o congelamento do suco não cessa completamente a atuação da enzima (BEDRIÑANA, LOBO, VALLES, 2019), aumento do teor de compostos bioativos e voláteis (ORELLANA-PALMA et

al., 2020), oxidação de fenóis nativos incolores, ácidos fenólicos e flavanóis (LE DEUN et al., 2015 apud ZIELINSKI et al., 2019).

Analisando-se a Tabela 7, pode-se notar que a adição de suco crioconcentrado na sidra base (SB) proporcionou um grande aumento nos parâmetros físico-químicos da bebida, principalmente no seu teor de açúcares, na sua acidez total e nas suas atividades antioxidantes *in vitro*. Da mesma forma, Los et al. (2017) também observaram as mesmas mudanças na sidra de maçã cv. Gala adicionada de suco crioconcentrado da mesma fruta e com teor alcoólico final de 4,49 °GL (ou 4,49 % m v⁻¹).

5.2 MONITORAMENTO MICROBIOLÓGICO DAS SIDRAS FINAIS

Quanto à *Salmonella* spp., observou-se que não houve incidência de colônias típicas, para todas as amostras, em todos os dias de armazenamento, durante o teste diferencial e, portanto, a análise foi descontinuada, aferindo, então, sua ausência nas mesmas. Para *E. coli* e coliformes termotolerantes, a etapa presuntiva, também atestou a inocuidade das amostras e, portanto, os ensaios foram descontinuados e a contagem, determinada conforme dados tabelados pelo método, foi < 3 NMP mL⁻¹ para todas as amostras.

Controlar esses micro-organismos se torna de extrema importância, uma vez que foram identificados como agentes etiológicos de surtos ao redor do mundo, causando desde infecções e hospitalização até a morte de pessoas. No Brasil, entre 2007 e 2020, ocorreram aproximadamente 9,27 mil surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA), infectando cerca de 156,7 mil pessoas, sendo 22,2 mil hospitalizadas e 156 levadas a óbito. Coliformes, *E. coli* e *Salmonella* spp. constam entre os principais causadores de surtos de DTHA no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan) e casos envolvendo essas bactérias devem ser, compulsoriamente, notificados (BRASIL, 2022; MACIEIRA, BARBOSA, TEIXEIRA, 2021).

A contaminação das frutas (e conseqüentemente de seus produtos) pode se dar desde o manejo do pomar e pós-colheita até o processamento e armazenamento dos produtos (MACIEIRA, BARBOSA, TEIXEIRA, 2021). No entanto, as espécies apresentam comportamentos próprios de colonização das frutas, que é dependente de qual fruta e de suas variedades (*e.g.* maçã cv. Gala), origem do micro-organismo (*e.g.* solo, frutas e fezes) e de seus fatores de virulência e temperatura (COLLIGNON, KORSTEN, 2010; GONZÁLEZ-LÓPEZ et al., 2019).

Os resultados indicam que não houveram falhas nas etapas de sanitização e

processamento das maçãs, crioconcentração do mosto, formulação da sidra final e envase, bem como na higiene pessoal e dos equipamentos utilizados. Não obstante, apesar de desconhecida a população inicial desses microrganismos, os resultados também sugerem que o hipoclorito de sódio na condição de $150 \text{ mg L}^{-1} 20 \text{ min}^{-1}$ obteve êxito na eliminação dos mesmos, estando de acordo com os resultados encontrados por Chung et al. (2011), onde *E. coli* não foi encontrada em maçã cv. Fuji após tratadas nas condições de 100 e $200 \text{ mg L}^{-1} 20 \text{ min}^{-1}$ e de Jacques et al. (2015), onde a concentração de $150 \text{ mg L}^{-1} 15 \text{ min}^{-1}$ resultou na eliminação das cargas microbianas de coliformes termotolerantes, *E. coli* e *Salmonella* spp. presentes na superfície de amoras-pretas cv. Tupy.

Em relação aos bolores e leveduras totais, pode-se notar, na Tabela 8, que o tratamento de pasteurização foi o mais efetivo, uma vez que reduziu as populações desses microrganismos em 92,9 % nas condições de $80 \text{ °C } 15 \text{ min}^{-1}$ e 83,3 % quando em $60 \text{ °C } 15 \text{ min}^{-1}$. Os resultados obtidos encontram-se pouco acima dos encontrados por Suárez-Jacobo et al. (2010), onde os autores encontraram populações inferiores a $2,0 \text{ log UFC mL}^{-1}$ ($1 \times 10^2 \text{ UFC mL}^{-1}$) de fungos e leveduras para o suco de maçã na condição de $90 \text{ °C } 4 \text{ min}^{-1}$. A diferença dos resultados pode ser advinda da condição mais severa de temperatura.

Tabela 8: Resultados de bolores e leveduras totais e bactérias lácticas das sidras

Amostra	Dias de armazenamento	Bolores e leveduras totais (UFC mL ⁻¹)	Bactérias lácticas (UFC mL ⁻¹)
CA	0	$2,7 \times 10^4$	$2,5 \times 10^5$
	30	$1,1 \times 10^6$	$<1,0 \times 10^2$
	60	$1,0 \times 10^5$	$1,9 \times 10^5$
	180	$4,5 \times 10^3$	$8,9 \times 10^6$
CR	0	$2,7 \times 10^4$	$2,5 \times 10^5$
	30	$6,0 \times 10^5$	$4,0 \times 10^5$
	60	$5,0 \times 10^5$	$5,7 \times 10^4$
	180	$2,2 \times 10^3$	$2,7 \times 10^5$
P80	0	$1,9 \times 10^3$ (est)	Presente ($<4,0 \times 10^1$)
	30	Presente ($<4,0 \times 10^2$)	$<1 \times 10^2$
	60	$1,6 \times 10^3$	Presente ($<4,0 \times 10^2$)
	180	$3,3 \times 10^1$	Presente ($<4,0 \times 10^2$)
P60	0	$3,7 \times 10^3$ (est)	Presente ($<4,0 \times 10^1$)
	30	$1,3 \times 10^3$	$<1 \times 10^2$
	60	$1,8 \times 10^3$	Presente ($<4,0 \times 10^2$)
	180	$5,2 \times 10^2$	Presente ($<4,0 \times 10^2$)
S	0	$1,2 \times 10^4$	$8,8 \times 10^4$
	30	$3,8 \times 10^6$	$2,8 \times 10^6$

Nota 1: UFC: Unidade formadora de colônia; CA: Sidra controle armazenada em temperatura ambiente; CR: Sidra controle armazenada sob refrigeração; P80: Sidra pasteurizada à $80 \text{ °C } 15 \text{ min}^{-1}$; P60: Sidra pasteurizada à $60 \text{ °C } 15 \text{ min}^{-1}$; S: Sidra tratada com sorbato de potássio $0,03 \text{ mg L}^{-1}$; est: estimado.

Entre os dias de armazenamento 0 e 30, CA apresentou um aumento populacional expressivo de 40,7 vezes e CR um aumento de 22,2 vezes. Por outro lado, P80 e P60 apresentaram um decréscimo populacional de 4,78 e 2,85 vezes, respectivamente. Essa diminuição está de acordo com o encontrado por Geraldi et al. (2021) em sucos de jabuticaba submetidos a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 2 min^{-1} , onde, inicialmente a população de fungos e leveduras era de $6,0 \times 10^2\text{ UFC mL}^{-1}$ e, após 30 d de armazenamento, sua população era inferior a 10 UFC mL^{-1} . Esse comportamento, segundo os autores, deve-se que o tratamento induz a perdas de funções metabólicas como a desnaturação de proteínas das células remanescentes.

Entre os dias 60 e 180, todas as amostras apresentaram declínio, podendo indicar que, entre esses dias, houve uma fase estacionária antecessora ao decaimento de sua população. Os fungos e leveduras totais também apresentaram maior resistência aos tratamentos de pasteurização (P80 e P60) e adição de sorbato de potássio (S) quando comparados com os outros micro-organismos, conforme demonstrado na Tabela 8.

Inicialmente, o controle ambiente (CA) apresentou uma população de $2,7 \times 10^4\text{ UFC mL}^{-1}$ no dia 0 que decaiu até $4,5 \times 10^3\text{ UFC mL}^{-1}$ ao término do monitoramento de 180 d (Tabela 8). Pode-se atribuir este comportamento a diminuição de substratos disponível para a manutenção e multiplicação celular (GUINÉ et al., 2021). Corroborando com essa hipótese, Ismail et al. (2014) determinaram que a escassez de zinco, magnésio e cálcio interfere no crescimento celular e Alberti et al. (2011) demonstraram que a população de leveduras está proporcional e intimamente ligada a concentração de nitrogênio e oxigênio do mosto. Não obstante, o consumo de carboidratos da amostra foi intenso, sendo esgotados entre os primeiros 30 d, como apresentado na Tabela 9 (Seção 5.3).

Comparando-se as sidras pasteurizadas (P60 e P80) com as outras amostras, notou-se que as sidras submetidas a este tratamento apresentaram contagens substancialmente menores, uma vez que sua população máxima de fungos e leveduras totais foi de $3,7 \times 10^3\text{ UFC mL}^{-1}$ e a de bactérias lácticas inferior a presença de $4 \times 10^2\text{ UFC mL}^{-1}$, as dos controles foram, respectivamente, de $1,1 \times 10^6$ e $8,9 \times 10^6\text{ UFC mL}^{-1}$ e para a amostra S, foram de $3,8$ e $2,8 \times 10^6\text{ UFC mL}^{-1}$, nessa ordem (Tabela 8). Os resultados demonstraram, portanto, a eficiência do tratamento térmico e que as bactérias lácticas são mais suscetíveis à essas condições. Ademais, entre as condições térmicas testadas, 60 e $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 15 min^{-1} , observou-se que a segunda apresentou populações ligeiramente menores desses micro-organismos (Tabela 8).

Os resultados acima estão de acordo com o estudo conduzido por Techakanon e Sirimuangmoon (2020), onde a condição mais severa ($71\text{ }^{\circ}\text{C}$ 6 s^{-1}) surtiu maior efeito inibitório em fungos e leveduras que a condição mais branda ($63\text{ }^{\circ}\text{C}$ 15 s^{-1}) na sidra obtida a partir de

jambo rosa (*Syzygium agueum* Alston cv. Taaptimjan). Os autores justificam esse resultado como consequência da destruição da membrana celular pelo calor. A temperatura também influenciou o crescimento dos micro-organismos, sendo observado um menor crescimento ou uma menor taxa de reprodução desses indivíduos na amostra CR.

Sorbatos são usualmente utilizados em alimentos e bebidas em concentrações que variam de 0,02 a 0,3 %, desempenhando, nesse intervalo, o efeito inibitório (DAVIDSON, TAYLOR, DAVID, 2021). Em bebidas fermentadas, são utilizados com a finalidade de estabilizar o produto acabado devido à capacidade de coibir funções metabólicas em micro-organismos (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006b apud ALMEIDA, SILVA, ELLER, 2022). Entretanto, durante o monitoramento de 180 d das sidras, as análises das amostras submetidas ao tratamento químico, sorbato de sódio 0,03 g 100 mL⁻¹, foram interrompidas devido ao crescimento exacerbado de micro-organismos, que, por sua vez, aumentou a carbonatação das bebidas, culminando na explosão das garrafas e, por conseguinte, perda das amostras.

O ocorrido demonstrou, empírica e quantitativamente, a ineficiência do sorbato de potássio, nessa concentração, em controlar a população de micro-organismos presentes, em especial das leveduras, que são as principais responsáveis pela produção de gás carbônico na bebida. Além disso, essa observação se torna preocupante, uma vez que estudos vêm demonstrando um aumento da capacidade dos micro-organismos de resistir aos mecanismos de ação dos conservantes químicos (ALHARBI et al., 2014; NASROLLAHZADEH et al., 2022).

Pode-se observar que no dia 0, as amostras controle (CA e CR) já apresentaram populações elevadas de bactérias lácticas ($2,5 \times 10^5$ UFC L⁻¹), levantando a hipótese de que elas são remanescentes da fermentação da Sidra Base (SB) e/ou do suco crioconcentrado (Crio). Corroborando com essa hipótese, Dierings et al. (2013), analisaram microbiologicamente o suco de maçãs comerciais da cv. Gala, bem como a cinética de fermentação de suas respectivas sidras obtidas por três diferentes processos fermentativos: fermentação natural, inoculação de *S. cerevisiae* (Arôme Plus) ($6,0 \times 10^6$ células mL⁻¹) e coinoculação de *S. cerevisiae* (Arôme Plus) e *Oenococcus oeni* (Enolate DIR) ($6,0 \times 10^6$ células mL⁻¹ cada).

Ao analisarem o suco, os autores obtiveram contagem de $1,41 \times 10^2$ UFC mL⁻¹ para bactérias lácticas. No processo natural, as bactérias lácticas nativas tiveram suas populações reduzidas a 8,5 UFC mL⁻¹ após 10 d de fermentação e aos 20 d, sua população aumentou até $4,1 \times 10^1$ UFC mL⁻¹ e se manteve estável até o fim da fermentação (45 d). No processo conduzido com inóculo de *S. cerevisiae*, a queda e aumento da sua população foi semelhante à da fermentação natural, entretanto, sua população, em 20 d de fermentação, foi superior, alcançando $1,14 \times 10^6$ UFC mL⁻¹ e se manteve estável até os 45 d de fermentação. Por fim, na

coinoculação, os autores obtiveram uma queda acentuada antes dos 10 d de fermentação e sua população foi em torno de $1 \cdot 10^2$ UFC mL⁻¹, que aos 20 d aumentou para $6,70 \cdot 10^5$ UFC mL⁻¹ e, ao contrário das demais fermentações, sua população foi superior a 10^7 UFC mL⁻¹ no dia 45. O decaimento da população inicial das bactérias lácticas, segundo os autores, tem relação com a competição por substrato e supressão populacional e seu aumento está relacionado com o aumento do teor de nitrogênio no meio, oriundo da autólise das leveduras. Desse modo, pode-se inferir que as elevadas populações de bactérias lácticas encontradas nas sidras do presente trabalho poderiam ser oriundas do Crio, mas, principalmente, de SB.

Segundo Sánchez et al. (2010), a fermentação malolática pode ser propriamente estabelecida quando a população de bactérias lácticas encontra-se na grandeza de 10^6 UFC mL⁻¹. No entanto, os autores, ao analisar essa fermentação na sidra obtida do suco industrial de maçãs, encontraram que a concentração de ácido málico da bebida foi, majoritariamente, reduzida quando a população desses micro-organismos era cerca de 10^5 UFC mL⁻¹. Os autores também observaram que o pH da bebida aumentava conforme decorria-se a fermentação malolática e, ao final do processo, o pH aumentou de 3,68 para 3,98. Não obstante, os autores advertem que a variação do pH não é proporcional à conversão de ácido málico em ácido láctico, uma vez que essas bactérias podem produzir o ácido láctico a partir de outros substratos. Essas informações podem explicar, também, as alterações de pH encontradas para CA, CR e S (Tabela 10; Seção 5.3).

Além dessas mudanças, Benito (2020) revisou informações acerca da fabricação do vinho e abordou que perdas de coloração podem ser observadas por uma fermentação malolática mal conduzida. A perda de cor pode ser causada por enzimas glicosidase das bactérias lácticas e consumo de compostos polifenólicos relacionados à cor. Essas informações podem ajudar, também, a perda de coloração da amostra CA.

5.3 MONITORAMENTO FÍSICO-QUÍMICO DAS SIDRAS

Em uma análise panorâmica, pode ser observado que a adição do suco crioconcentrado forneceu nutrientes necessários para a manutenção e crescimento celular, e, dessa maneira, permitiu que as amostras fossem submetidas a uma refermentação (Tabela 9). Pôde-se observar também a sua evolução nas amostras CA e S e que o teor de carboidratos foi condizente com o crescimento de micro-organismos dessas amostras. Além disso, a pasteurização promoveu maior estabilidade da bebida, uma vez que a concentração de açúcares totais se manteve maior nas amostras P80 e P60 e que, entre essas duas amostras, a primeira apresentou melhor

resultado (Tabela 9).

Notou-se, também, na Tabela 9 que a sacarose foi hidrolisada de forma vigorosa nas amostras CA, CR e S e branda nas amostras P60 e P80, formando glucose e frutose, porém não consumidas, uma vez que as amostras, comparadas aos controles, não apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) com relação ao teor de açúcares totais, com exceção da amostra P60, em que sua concentração foi maior que as demais amostras. Marques et al. (2016), utilizando-se da *S. cerevisiae*, aborda que a hidrólise ocorre devido à liberação de enzima (β -frutofuranosidase, EC 3.2.1.26) no mosto para promover a dissociação desse dissacarídeo em monômeros de glucose e frutose, para então, adentrarem à célula pelo mecanismo de difusão facilitada e serem utilizados como substrato. A partir do apresentado, juntamente com os resultados microbiológicos (Tabela 8; Seção 5.2), pode-se afirmar que no momento da análise do dia de armazenamento 0, os micro-organismos encontravam-se no período de adaptação ao meio, ou fase lag, para todas as amostras. Esse período de adaptação dos micro-organismos encontra-se de acordo com o tempo de duração da fase lag encontrada por Li et al. (2021), que foi de 24 h para o suco comercial de maçã, e com o encontrado por Ye, Yue e Yuan (2014), onde o consumo de substrato pelas leveduras aumentou significativamente somente após 12 h para o suco de maçã cv. Fuji.

Tabela 9: Composição físico-química de sidras elaboradas com diferentes tratamentos de conservação durante o armazenamento de 180 dias

Amostra	Dias de armazenamento	Composto (g 100 mL ⁻¹)					Teor alcoólico % (v v ⁻¹)	Densidade (g cm ⁻³)
		Açúcares Totais	Sacarose	Glucose	Frutose	Glicerol		
CA	0	4,476 ^{cd} ± 0,006	0,17 ⁱ ± 0,01	1,39 ^b ± 0,01	2,91 ^a ± 0,01	0,29 ⁱ ± 0,01	4,6 ^{gh} ± 0,1	1,0146 ^{bc} ± 0,0002
	30	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,44 ^b ± 0,01	7,4 ^b ± 0,1	0,9938 ^h ± 0,0004
	60	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,43 ^c ± 0,01	7,1 ^c ± 0,2	0,9937 ^h ± 0,0001
	180	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,45 ^a ± 0,01	7,7 ^a ± 0,1	0,99372 ^h ± 0,00001
CR	0	4,476 ^{cd} ± 0,006	0,17 ⁱ ± 0,01	1,39 ^b ± 0,01	2,91 ^a ± 0,01	0,29 ⁱ ± 0,01	4,6 ^{gh} ± 0,1	1,0146 ^{bc} ± 0,0002
	30	4,08 ^f ± 0,03	< LOD	1,27 ^{cd} ± 0,01	2,81 ^c ± 0,02	0,31 ^{fg} ± 0,01	4,9 ^{ef} ± 0,1	1,00888 ^f ± 0,00004
	60	3,856 ^g ± 0,003	< LOD	1,19 ^g ± 0,01	2,66 ^{fg} ± 0,01	0,33 ^e ± 0,01	4,95 ^e ± 0,07	1,0124 ^d ± 0,0006
	180	3,46 ⁱ ± 0,03	< LOD	0,93 ^k ± 0,01	2,53 ⁱ ± 0,03	0,31 ^g ± 0,01	6,65 ^d ± 0,07	1,01128 ^e ± 0,00005
P80	0	4,529 ^c ± 0,008	0,65 ^a ± 0,01	1,17 ^h ± 0,01	2,71 ^e ± 0,01	0,31 ^g ± 0,01	4,60 ^{gh} ± 0,01	1,015 ^{bc} ± 0,0001
	30	4,41 ^{cde} ± 0,03	0,55 ^c ± 0,01	1,23 ^f ± 0,01	2,65 ^g ± 0,03	0,31 ^g ± 0,01	4,55 ^{gh} ± 0,07	1,0152 ^b ± 0,0001
	60	4,48 ^{cd} ± 0,02	0,48 ^e ± 0,01	1,28 ^e ± 0,01	2,80 ^c ± 0,02	0,30 ^h ± 0,01	4,6 ^{fg} ± 0,2	1,015 ^{bc} ± 0,0001
	180	4,21 ^f ± 0,02	0,31 ^g ± 0,01	1,25 ^g ± 0,01	2,76 ^d ± 0,03	0,25 ^j ± 0,01	4,65 ^{fg} ± 0,07	1,015 ^b ± 0,0002
P60	0	4,85 ^b ± 0,03	0,65 ^a ± 0,01	1,26 ^d ± 0,01	2,94 ^a ± 0,03	0,35 ^d ± 0,01	4,7 ^{efg} ± 0,1	1,0144 ^c ± 0,0001
	30	4,34 ^e ± 0,03	0,54 ^c ± 0,01	1,15 ⁱ ± 0,02	2,64 ^h ± 0,01	0,30 ^h ± 0,01	4,50 ^{gh} ± 0,01	1,0148 ^{bc} ± 0,0001
	60	4,41 ^{cde} ± 0,04	0,40 ^f ± 0,01	1,24 ^e ± 0,01	2,69 ^{ef} ± 0,04	0,30 ^h ± 0,01	4,7 ^{efg} ± 0,1	1,0147 ^{bc} ± 0,0001
	180	3,71 ^h ± 0,04	0,21 ^h ± 0,01	1,08 ⁱ ± 0,01	2,32 ^j ± 0,03	0,23 ^k ± 0,01	4,70 ^{efg} ± 0,01	0,015 ^{bc} ± 0,00004
S	0	4,40 ^{de} ± 0,01	0,13 ^j ± 0,01	1,41 ^a ± 0,01	2,86 ^b ± 0,02	0,32 ^f ± 0,01	4,7 ^{efg} ± 0,1	1,015 ^{bc} ± 0,00004
	30	0,991 ^j ± 0,003	< LOD	0,12 ^l ± 0,01	0,88 ^k ± 0,01	0,07 ^l ± 0,01	6,9 ^{cd} ± 0,2	0,9980 ^g ± 0,0003

Nota 1: CA: Sidra controle armazenada em temperatura ambiente; CR: Sidra controle armazenada sob refrigeração; P80: Sidra pasteurizada à 80 °C 15 min⁻¹; P60: Sidra pasteurizada à 60 °C 15 min⁻¹; S: Sidra tratada com sorbato de potássio 0,03 mg L⁻¹.

Nota 2: <: menor que; LOD: Limite de detecção.

Nota 3: Resultados expressados como média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p<0,05) de acordo com o teste de Fisher LSD.

Quanto a concentração de glucose, notou-se que houve uma preferência de consumo por parte dos micro-organismos presentes e todas as amostras apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os dias 0 e 180, tanto entre si quanto entre outras amostras. Entre as amostras, CA e S, nessa ordem, apresentaram, significativamente ($p < 0,05$), as menores concentrações e, logo, os consumos mais rápidos entre as amostras, sendo o carboidrato totalmente consumido entre os 30 primeiros dias de armazenamento para a primeira. CR demonstrou uma queda consistente, e significativa ($p < 0,05$), a cada análise e as sidras P80 e P60, respectivamente, apresentaram maior concentração residual desse açúcar.

Avaliando-se a concentração de frutose nas amostras, notou-se que este foi o açúcar mais abundante ao final do monitoramento e, de maneira geral, apresentou um decréscimo significativo ($p < 0,05$) entre o início e o fim do período analisado. Seu teor foi estatisticamente ($p < 0,05$) maior para a sidra pasteurizada em temperatura mais elevada (P80), concordando que a inativação dos micro-organismos nessa temperatura foi mais eficiente.

Considerando que as leveduras podem apresentar caráter gluco- ou frutofílico ou gluco- ou frutofóbico, conforme a razão entre as porcentagens de consumo de glucose e de frutose, sua classificação será dada da seguinte forma: se a razão for < 1 , significa que seu caráter é frutofílico ou glucofóbico; se > 1 , seu caráter é classificado como frutofóbico ou glucofílico. A partir disso, comprovou-se o caráter glucofílico para as leveduras utilizadas, onde, para todas as amostras de sidra, o resultado dessa razão foi > 1 , estando de acordo com os resultados encontrados por Dierings et al. (2013), onde os autores, ao utilizarem o mosto de maçã cv. Gala, encontraram que as leveduras *S. cerevisiae* possuíam preferência pela metabolização da glucose. Conhecer esta característica e o perfil de açúcares da matéria-prima, possibilita que a fermentação seja conduzida de maneira mais assertiva e com melhores resultados (FURLANI et al., 2017). Não obstante, a preferência de consumo desses carboidratos impacta diretamente na qualidade sensorial da bebida, uma vez que os açúcares apresentam poder edulcorante diferentes, sendo a sacarose utilizada convencionalmente como padrão e valor de 1, a glucose e frutose com menor e maior poder edulcorante, respectivamente, com valores de 0,75 e 1,7 na mesma ordem (GREMBECKA, 2015). Desse modo, a frutose residual das sidras produzidas, as tornariam sensorialmente doces e potencialmente mais aceitas por consumidores, uma vez que os mesmos possuem maior preferência pelo gosto doce e frequentemente o relacionam com a segurança do alimento (CORTÉS et al., 2009; GREMBECKA, 2015)

Comparando-se as amostras, notou-se que existiu uma relação entre a temperatura de armazenamento, consumo de açúcar e o residual de açúcar com o tempo de armazenamento. A

amostra armazenada sob refrigeração (CR) apresentou, significativamente ($p < 0,05$), maior teor residual de frutose comparada com P60. As amostras armazenadas em temperatura ambiente (CA e S) tiveram os açúcares rapidamente consumidos e as amostras pasteurizadas o maior teor de açúcares totais residual. Essa relação pode ser explicada pela temperatura promover grande influência na capacidade de a célula absorver e metabolizar o substrato, onde temperaturas mais elevadas promovem um maior e mais rápido consumo dos nutrientes da sidra (KELKAR, DOLAN, 2012). Além disso, o consumo de substrato está intimamente relacionado com a população de micro-organismos do meio, como discutido anteriormente.

Também se constatou que CR foi a amostra que, estatisticamente ($p < 0,05$) mais conteve glicerol entre as amostras. Entretanto, a concentração desse composto não ultrapassou $0,5 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$. Os Resultados encontrados assemelham-se aos encontrados por He et al. (2022), que ao analisarem as fermentações, conduzidas por *S. cerevisiae* e *Schizosaccharomyces pombe*, do mosto de 10 diferentes cultivares de maçã obtiveram concentrações entre $1,65$ e $5,94 \text{ g L}^{-1}$ (ou $0,165$ e $0,594 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$) para a primeira e entre $3,96$ e $7,75 \text{ g L}^{-1}$ (ou $0,396$ e $0,775 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$) para a segunda e concluíram que sua concentração depende da espécie de levedura e da cultivar da maçã. Ao decorrer do processo fermentativo alcoólico em condições reais, 95 % dos produtos gerados serão compostos por etanol e CO_2 , 1% em biomassa e o restante em compostos secundários, como o glicerol (CALUGAR et al., 2021). Entretanto, em condições adversas, como alto teor de açúcares ($\sim 30^\circ$ Brix), as leveduras são capazes de alterar sua via metabólica para aumentar a produção de glicerol, uma vez que o mesmo apresenta comportamento osmoprotetor (LU et al., 2017). Com essas informações, e que o suco de maçã crioconcentrado de maçã cv Granny Smith não continha glicerol em sua composição (Tabela 7; Seção 5.1) pode-se inferir que o glicerol presente nas siras foi formado durante a fermentação alcoólica de SB e refermentação durante o armazenamento. Não obstante, sua baixa concentração nas amostras indica que não houve desvio de rota metabólica das leveduras.

Levando-se em conta o padrão de identidade e qualidade das sidras no Brasil, estabelecida pela IN nº 34, de 29 de novembro de 2012 e alterada pela IN nº 19, de 19 de março de 2020, as sidras seriam classificadas como: SB: sidra seca ou *dry*; CA: dia 0 seria classificada como meio seco e demais dias como sendo seca ou *dry*; CR, P80 e P60: seriam classificadas como meio seco para todos os dias de armazenamento; S: seria classificada como sendo meio seco para o dia inicial e seca ou *dry* para os demais dias. Assim, portanto, os métodos de conservação térmica foram eficazes em estabilizar a bebida durante o armazenamento.

Ao se analisar o teor alcóolico das amostras, notou-se que não houve diferença

significativa ($p < 0,05$) para as amostras P80 e P60 durante o período de armazenamento, estando seus valores compreendidos entre 4,50 e 4,70 % (v v⁻¹) de álcool (Tabela 9). Todavia, as demais amostras demonstraram um aumento significativo ($p < 0,05$) em seu percentual alcóolico, sendo CA a amostra que apresentou os maiores teores encontrados, com uma alta de 3,1 % (v v⁻¹) entre os dias inicial e final analisado, seguida das amostras S, com um aumento de 2,2 % (v v⁻¹) e CR (2,05 % v v⁻¹), sendo as últimas, entre si, sem diferença significativa. Apesar da refermentação, as amostras CA e CR, encontraram-se dentro do predito pela Legislação Brasileira, a saber: IN 19/2020, que exige a graduação entre 4,0 e 8,0 % (v v⁻¹) (BRASIL, 2020), no entanto, apesar de estarem contidas na faixa exigida pela legislação, as alterações trariam problemas legais, uma vez que o teor alcóolico da bebida estaria em discordância com discriminado em seu rótulo. A partir disso, pode-se estabelecer que a vida de prateleira para essas amostras seriam melhor determinada em < 30 d. De mesmo modo, P80 e P60 estão de acordo com o exigido pela legislação e, quanto ao teor alcóolico, seus prazos de validade comercial seriam estendidos até 180 d. Quanto a amostra S, devido a descontinuidade de seu monitoramento, não se fez possível uma afirmação quanto sua conformidade perante a legislação vigente.

Comparando-se os resultados acerca dos teores alcóolicos com os microbiológicos, observou-se que durante os 180 d de monitoramento as populações de fungos e leveduras totais de CA, CR e S tiveram população máxima no dia 30 de armazenamento (Tabela 8; Seção 5.2) ($1,1 \times 10^6$; $6,0 \times 10^5$ e $3,8 \times 10^6$ UFC mL⁻¹, respectivamente) e população mínima ao final do período ($4,5 \times 10^3$; $2,2 \times 10^3$ UFC mL⁻¹) e suspensão da amostra, respectivamente, enquanto o teor alcóolico aumentou gradativamente até o término do período. Esse comportamento pode ser justificado pela capacidade das leveduras em modular suas membranas para resistir aos efeitos do etanol, como alteração da estrutura celular e inibição do transporte metabólico. Essas mudanças estão ligadas à fluidez e permeabilidade da membrana celular, que são dependentes de fatores como a síntese de aminoácidos, aumento das saturações ou insaturações de determinadas cadeias carbônicas da membrana celular (LAIRÓN-PERIS et al., 2021; OLGUÍN et al., 2015). Não obstante, o ambiente anaeróbio provoca perda da capacidade de síntese de esteróis, como o ergosterol, que estão intimamente relacionados a capacidade de a célula suportar o estresse alcóolico (DEESUTH, LAOPAIBOON, LAOPAIBOON, 2016).

Ivit, Longo e Kemp (2020), ao revisarem informações acerca dos efeitos da utilização de leveduras não-*Saccharomyces* e *Saccharomyces não-cerevisiae* em vinhos, abordam que, sensorialmente, o teor de etanol na bebida influencia a percepção de doçura, amargor, corpo e aroma da bebida, além de estar relacionado direta e proporcionalmente com o valor nutricional

da mesma, que, por sua vez, impacta a preferência dos consumidores, que cada vez mais buscam bebidas com menores teores alcoólicos.

Nesse sentido, manter o teor alcoólico da sidra estável durante sua vida de prateleira (*shelf-life*), torna-se indispensável tanto no âmbito legal quanto mercadológico. Desse modo, observa-se que as sidras pasteurizadas, embora apresentando alterações não significativas ($p < 0,05$) entre os dias de armazenamento, mantiveram estatisticamente ($p < 0,05$), ao final do período de 180 d, os mesmos teores alcoólicos determinados no início do monitoramento. P80 e P60 continham inicialmente 4,60 e 4,70 % ($v v^{-1}$), respectivamente, e ao desse período apresentaram, nessa ordem, 4,65 e 4,70 % ($v v^{-1}$) (Tabela 9). Ao contrário dos tratamentos, os controles apresentaram aumentos significativos ($p < 0,05$) em seus teores alcoólicos, evidenciando refermentação das amostras.

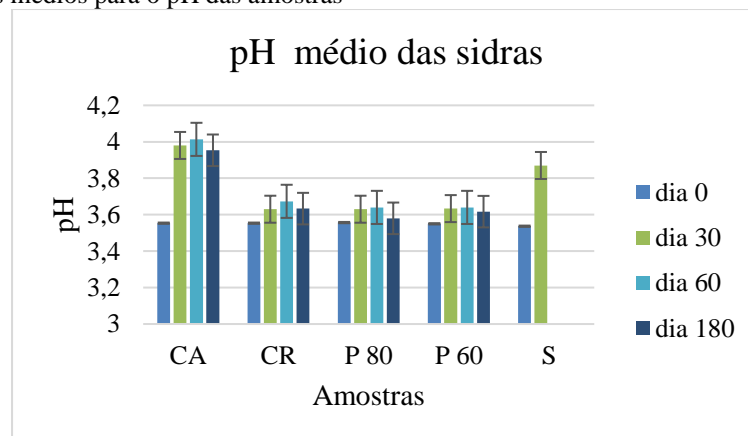
Zuo et al. (2019) observaram, para sidra de maçãs híbridas chinesas de polpa vermelha, que a concentração de 7,5 % ($v v^{-1}$) de álcool apresentou a maior pontuação sensorial e foi discriminada como possuindo fragrância forte, sabor persistente, aroma intenso de maçã e frutas, equilíbrio agridoce e corpo rico, isso devido ao etanol provocar um aumento da percepção de características sensoriais (e. g. doçura, adstringência, amargor e acidez) (SYMONEAUX et al., 2014 a,b). Apesar do teor alcoólico de P80 e P60 estar substancialmente menor (Tabela 9), a correção dos açúcares, aromas e da acidez, com suco crioconcentrado, pode trazer características similares às encontradas pelos autores, estando de acordo com os achados de Los et al. (2017), onde o acréscimo de suco crioconcentrado de maçã cv. Gala na sidra obtida da mesma cultivar, acrescentou notas aromáticas frutadas e de maçã e promoveu o corpo da bebida.

Ao analisar a densidade das amostras, observa-se que P80 e P60 foram as amostras que mais conseguiram manter ela estável (Tabela 9). Por outro lado, as amostras CA, CR e S apresentaram reduções em suas densidades ao decorrer do monitoramento (Tabela 9), indicando, mais uma vez, que as amostras estavam sob refermentação, uma vez que há o consumo de açúcares (compostos mais densos) e liberação de etanol e CO_2 (compostos menos densos). O mesmo comportamento foi encontrado por Tangüler e Erten (2022): a densidade diminuiu conforme decorria-se o processo fermentativo e os autores o justificaram como sendo consequência da atividade das leveduras. Além disso, na condução de fermentações em que não ocorre um processo de clareamento do mosto, há, portanto, no caso da maçã, maiores quantidades de fitoesteróis disponíveis para o metabolismo das leveduras, acarretando numa maior velocidade de fermentação (VILLIÈRE et al., 2015) e, por conseguinte, afetando a densidade. Somado a isso, Nogueira et al. (2008) observaram que a densidade pode indicar

razoavelmente a população das leveduras.

O pH das amostras, demonstrado na Figura 5, oscilou entre os dias analisados e aumentou durante os 180 d de monitoramento em comparação com seu valor inicial, com exceção de P80. Tal comportamento também foi observado no armazenamento de: fermentado de romã (LAN et al., 2017) e suco de lichia (VISUTHIWAN, ASSATARAKUL, 2021). Del Campo et al. (2008) observaram que durante a fermentação malolática de sidras obtidas de maçãs de sidra do País Basco, os pHs das sidras aumentaram de 3,18-3,43 para 3,52-3,78. Essa oscilação no pH está relacionada principalmente ao tipo de ácido orgânico, devido a sua estrutura eletrônica, sua concentração na bebida, ao desenvolvimento de micro-organismos e sua capacidade de metabolização desses ácidos (DARIAS-MARTIN et al., 2003; TAŠEV, STEFOVA, IVANOVA-PETROPULOS, 2016; ZHONG et al., 2020). Em conformidade com essa afirmação, observou-se que as oscilações do pH acompanharam o crescimento dos micro-organismos (Tabela 8; Seção 5.2).

Figura 5: Resultados médios para o pH das amostras



Nota 1: CA: Sidra controle armazenada em temperatura ambiente; CR: Sidra controle armazenada sob refrigeração; P80: Sidra pasteurizada à 80 °C 15 min⁻¹; P60: Sidra pasteurizada à 60 °C 15 min⁻¹; S: Sidra tratada com sorbato de potássio 0,03 mg L⁻¹.

Nota 2: Resultados expressados como média ± desvio padrão.

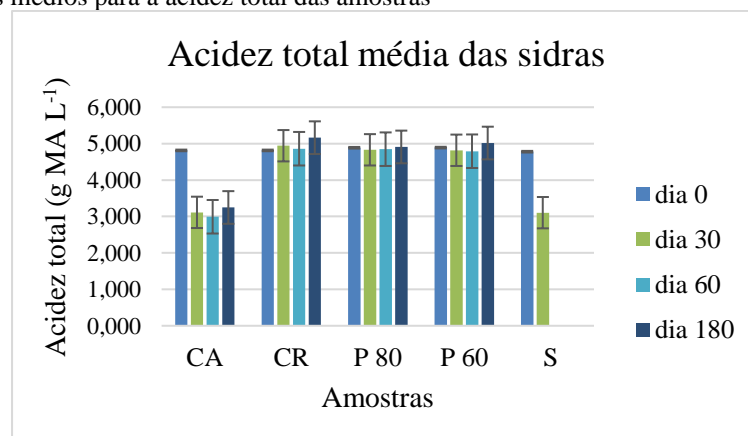
Além disso, o pH pode ser uma barreira de segurança da bebida, uma vez que pH inferiores a 4,0 podem aumentar a entrada de ácidos orgânicos fracos pela membrana celular e acidificar o meio intracelular e causar desestabilização sistêmica de micro-organismos patogênicos e deteriorantes (VRIESEKOOOP et al., 2012).

Os parâmetros de acidez total e acidez volátil, respectivamente, estão ligados intimamente com a qualidade da bebida em seu mais amplo sentido, uma vez que a acidez pode causar alterações sensoriais, como cor, sabor e sensação na boca; e físico-químicas, como a atividade antioxidante. Não obstante, a acidez está relacionada à segurança da bebida, devido a

alterar o pH do meio e favorecer ou inibir o crescimento de micro-organismos, podendo ser patogênicos ou deteriorantes. Os últimos, por sua vez, podem produzir compostos como cetonas, diacetil, e ácido acético, esse podendo representar até 90 % da acidez volátil em vinhos, que culminarão na perda da qualidade da sidra (ALBERTI et al., 2016; COELHO et al., 2015; JOSHI, ATTRI, 2017; LACHOWICZ et al., 2017; LACHOWICZ et al., 2019; SARANRAJ, SIVASAKTHIVELAN, NAVEEN, 2017; VASANTHA RUPASINGHE et al., 2017).

Ao analisar a acidez total, as amostras P80 e P60 demonstraram um leve aumento nesse parâmetro e S uma leve diminuição logo após os tratamentos (dia 0), como mostra a Figura 6, porém, não houveram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as amostras. Aos 30 d de monitoramento, a acidez total de CR foi ligeiramente superior e apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) às amostras P80 e P60, que não apresentaram diferença estatística entre si, no entanto, elas foram significativamente ($p < 0,05$) superiores às demonstradas por CA e S aos 30 d, que foram iguais ($3,11 \text{ g MA } 100 \text{ mL}^{-1}$) (Figura 6). Aos 60 d, P80 e CR apresentam leve diminuição e P60 um pequeno aumento da acidez total, mas essas alterações não foram significativas em comparação com o dia de armazenamento e anterior e CR voltou a ser estatisticamente ($p < 0,05$) igual às amostras pasteurizadas (Figura 6). Contrariando essa tendência, todas as amostras apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) entre si ao término do monitoramento, sendo $\text{CR} > \text{P80} > \text{P60} > \text{CA}$. Além disso, observou-se que ao término dos 180 dias de armazenamento, as acidez totais das amostras CR, P80 e P60 foram estatisticamente ($p < 0,05$) superiores à dos outros dias (Figura 6), assemelhando-se ao comportamento observado por Lachowicz et al. (2019) para sidras obtidas de maçã cv. Bela Marii, onde após o armazenamento de três meses, a acidez total aumentou de 6,25 para 6,51 g MA L^{-1} .

Figura 6: Resultados médios para a acidez total das amostras

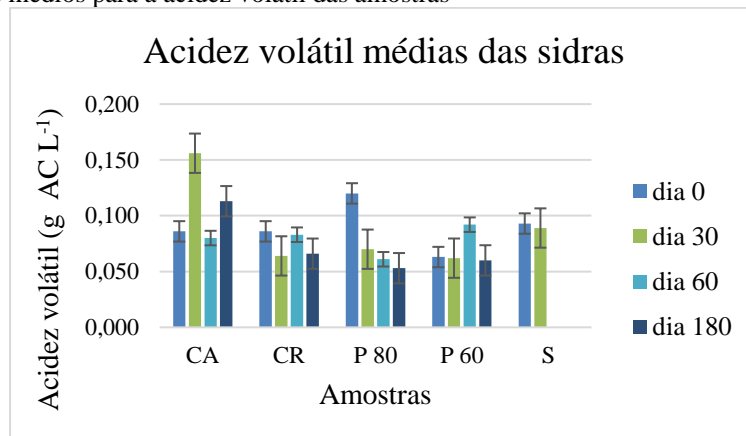


Nota 1: CA: Sidra controle armazenada em temperatura ambiente; CR: Sidra controle armazenada sob refrigeração; P80: Sidra pasteurizada à 80 °C 15 min⁻¹; P60: Sidra pasteurizada à 60 °C 15 min⁻¹; S: Sidra tratada com sorbato de potássio 0,03 mg L⁻¹.

Nota 2: Resultados expressados como média ± desvio padrão.

Tendo em vista a acidez volátil (AV), demonstrada na Figura 7, observou-se para o dia de armazenamento 0 que P60 apresentou, significativamente ($p < 0,05$), o maior valor ($0,12 \text{ AC } 100 \text{ mL}^{-1}$) e P80 o menor valor ($0,6 \text{ AC } 100 \text{ mL}^{-1}$) que as demais amostras não apresentaram diferença estatística nesse dia de armazenamento (Figura 7). No dia 30, houveram as maiores oscilações, bem como, as maiores diferenças significativas ($p < 0,05$), onde CA apresentou a maior AV e P80 a menor. Ainda nesse dia, os tratamentos térmicos não apresentaram diferença estatística entre si e, portanto, $P80 = P60$. Após 60 d de monitoramento, a AV de CA diminuiu significativamente ($p < 0,05$) (50 %) e atingiu o valor de $0,8 \text{ g AC L}^{-1}$ e não houve diferença significativa entre as amostras nesse dia de armazenamento (Figura 7). Entretanto, com 180 d de armazenamento, sua AV volta a aumentar e a amostra se difere, estatisticamente ($p < 0,05$), das demais, que não apresentaram diferença significativa entre si (Figura 7).

Figura 7: Resultados médios para a acidez volátil das amostras



Nota 1: CA: Sidra controle armazenada em temperatura ambiente; CR: Sidra controle armazenada sob refrigeração; P80: Sidra pasteurizada à $80 \text{ }^\circ\text{C } 15 \text{ min}^{-1}$; P60: Sidra pasteurizada à $60 \text{ }^\circ\text{C } 15 \text{ min}^{-1}$; S: Sidra tratada com sorbato de potássio $0,03 \text{ mg L}^{-1}$.

Nota 2: Resultados expressados como média \pm desvio padrão.

A acidez total encontrada para as amostras, foi parecida com as encontradas nas sidras da cv. Gloster por Satora et al. (2018) ($2,7$ a $5,8 \text{ g MA L}^{-1}$, conforme a cepa ou combinação de cepas inoculadas no mosto), ligeiramente abaixo das encontradas na sidra da cv. Gala por Alberti et al. (2016) (6 g MA L^{-1}) e substancialmente acima das encontradas por Tarko et al. (2020) nas sidras da cv. Rubin ($1,23$ a $2,41 \text{ g MA L}^{-1}$, conforme a cepa de levedura e suplementação de minerais). No entanto a acidez volátil encontra-se semelhante aos encontrados por Alberti et al. (2016) ($0,4$ a $1,2 \text{ g AC L}^{-1}$) e Tarko et al. (2020) ($0,13$ a $0,76 \text{ g AC L}^{-1}$).

As oscilações nas acidez total e volátil podem ser explicadas pelo material e formato da garrafa (PLOTKOWSKI et al., 2016), formação e consumo de ácidos orgânicos, (ZHONG et al., 2020), quebras de moléculas orgânicas (ALMEIDA et al., 2020) e reações de esterificação

entre álcoois e ácidos orgânicos, como o ácido málico e succínico (JOSHI, ATTRI, 2017). Além desses fatores, parte da acidez volátil pode ter se desprendido da bebida e carregada pelo CO₂ no momento da degaseificação das amostras para a análise microbiológica.

Considerando a legislação vigente, todas as amostras, em todos os dias analisados, encontram-se dentro do limite estabelecido para a acidez volátil, que limita a 30 mEq L⁻¹. Entretanto, para a acidez total, em que a legislação estabelece os valores mínimo de 50 e máximo de 130 mEq L⁻¹, a amostra CA encontrou-se em desacordo, não atingindo o mínimo estabelecido aos 30, 60 e 180 d de armazenamento, possuindo, nessa ordem, valores de 46,4; 45,0 e 49,7 mEq L⁻¹. De mesmo modo, S não o atingiu no dia 30, com uma acidez total de 46,3 mEq L⁻¹; as demais amostras encontraram-se dentro dos valores estabelecidos durante todo o monitoramento.

Possuir conhecimento acerca da estabilidade do produto ao longo do tempo vem sendo cada vez mais importante para os produtores de alimentos, uma vez que os consumidores estão a preferir alimentos que promovam, além da nutrição, efeitos benéficos a saúde e sejam sensorialmente agradáveis. Nesse sentido, entender a estabilidade dos compostos fenólicos totais (TFC) se faz necessário, uma vez que se relacionam com a promoção da saúde e com as qualidades sensoriais da bebida, como a cor, aroma e corpo da sidra (LIN et al., 2022; STAROWICZ et al., 2020).

Quanto ao conteúdo fenólico total, apresentado na Tabela 10, as amostras mostraram diferença significativa ($p < 0,05$) entre seus dias iniciais e finais, com exceção de P60, em que o declínio não se apresentou estatisticamente significativo ($p < 0,05$) entre esses dias (Tabela 10). O maior decréscimo foi apresentado pela amostra S, mesmo sendo suspensa antes dos 60 d de análise, com a queda de 173 mg EAC L⁻¹ ou 20,12 %, seguida, respectivamente, de CA (151 mg EAC L⁻¹ ou 17,36 %), P80 (127 mg EAC L⁻¹ ou 14,6 %), CR (87 mg EAC L⁻¹ ou 10%) e, por fim, P60 (7 mg EAC L⁻¹ ou 0,88%).

Tabela 10: Resultados médios do teor de compostos fenólicos totais e das atividades antioxidantes *in vitro*

Amostra	Dias de Armazenamento	TFC (mg CAE L ⁻¹)	DPPH (μmol TE L ⁻¹)	ABTS (μmol TE L ⁻¹)	FRAP (μmol TE L ⁻¹)
CA	0	870 ^{ab} ± 26	1217 ^a ± 17	2923 ^{abc} ± 134	1911 ^b ± 30
	30	780 ^{ef} ± 26	1102 ^b ± 30	3076 ^a ± 23	1862 ^{bc} ± 53
	60	810 ^{cde} ± 40	1123 ^b ± 17	2900 ^{bc} ± 65	1900 ^{bc} ± 161
	180	719 ^{gh} ± 26	556 ^{ef} ± 7	1790 ^f ± 74	1229 ^h ± 18
CR	0	870 ^{ab} ± 26	1217 ^a ± 17	2923 ^{adc} ± 134	1911 ^b ± 31
	30	845 ^{abc} ± 52	938 ^d ± 101	2959 ^{ab} ± 93	2075 ^a ± 45
	60	830 ^{cd} ± 11	967 ^{cd} ± 33	2946 ^{abc} ± 267	1819 ^{bcd} ± 175
	180	783 ^{ef} ± 12	542 ^f ± 18	1828 ^f ± 12	1506 ^g ± 81
P80	0	860 ^b ± 0,01	1012 ^c ± 26	2910 ^{abc} ± 49	1819 ^{bcd} ± 41
	30	813 ^{cde} ± 15	1118 ^b ± 55	2887 ^{bc} ± 71	1588 ^{fg} ± 15
	60	795 ^{def} ± 54	1156 ^{ab} ± 33	2678 ^d ± 144	1554 ^{fg} ± 7
	180	743 ^{fg} ± 9	569 ^{ef} ± 43	1410 ^g ± 10	1225 ^h ± 40
P60	0	795 ^{def} ± 15	1140 ^b ± 105	3011 ^{ab} ± 69	1913 ^b ± 73
	30	760 ^{efg} ± 31	1129 ^b ± 22	2870 ^{bc} ± 34	1764 ^{cde} ± 112
	60	770 ^{efg} ± 9	956 ^{cd} ± 41	2154 ^e ± 19	1580 ^{fg} ± 115
	180	788 ^{ef} ± 46	621 ^e ± 53	1504 ^g ± 22	1700 ^{def} ± 33
S	0	860 ^{bc} ± 48	1162 ^{ab} ± 37	2864 ^{bc} ± 29	1644 ^{efg} ± 185
	30	687 ^h ± 8	989 ^{cd} ± 17	2782 ^{cd} ± 215	1635 ^{efg} ± 80

Nota 1: CA: Sidra controle armazenada em temperatura ambiente; CR: Sidra controle armazenada sob refrigeração; P80: Sidra pasteurizada à 80 °C 15 min⁻¹; P60: Sidra pasteurizada à 60 °C 15 min⁻¹; S: Sidra tratada com sorbato de potássio 0,03 mg L⁻¹; TFC: Conteúdo fenólico total;

Nota 2: Resultados expressados como média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p<0,05) de acordo com o teste de Fisher LSD.

Li et al. (2022), ao conduzirem uma segunda fermentação, de 30 d a 14 °C, das sidras da cv. Fuji pasteurizadas (85 °C 15 min⁻¹) suplementadas com sacarose (10 °Brix) e inoculadas com *S. cerevisiae* para a obtenção de sidras espumantes, obtiveram uma redução significativa do conteúdo fenólico total após a segunda fermentação entre 15,67 a 24,25 %, conforme a cepa de levedura utilizada. Comparando-se as perdas, pode-se observar que o efeito da refermentação de S e CA foram similares aos encontrados pelos autores. Outra observação pode ser feita comparando-se as perdas obtidas por eles com as de P60 e P80, onde os tratamentos térmicos causaram menores prejuízos ao conteúdo fenólico total (considerando valores iniciais de CA), respectivamente, no dia 0 (8,62 e 1,15 %) e no dia 180 (9,43 e 14,60 %).

Ao término do monitoramento de 180 d, CA apresentou as menores concentrações de compostos fenólicos totais, diferenciando-se, estatisticamente (p < 0,05), das demais amostras (Tabela 10). As sidras pasteurizadas, embora tenham mostrado diferentes teores de fenólicos totais entre si, sendo P80 a com o menor teor (743 mg EAC L⁻¹), a diferença não foi significativa (p < 0,05). De mesma forma, ambas não apresentaram diferença significativa com CR (Tabela 10).

A queda do conteúdo fenólico total das amostras pode estar relacionada com a

temperatura e grau de polimerização dos compostos (DE PAEPE et al., 2014), a classe dos polifenóis (VAN DER SLUIS, DEKKER, VAN BOEKEL, 2005), e interações entre compostos redutores quaisquer, como açúcares ou aminoácidos, com o reagente de Folin-Ciocalteu (EVERETTE et al., 2010; LANG et al., 2019). Além desses fatores, o armazenamento também pode causar redução do teor de composto fenólicos totais, como observaram Techakanon e Sirimuangmoon (2020).

Ao contrário das demais amostras, em que o conteúdo fenólico total demonstrou constante declínio, estando de acordo com as informações próximas acima, P60 apresentou uma queda entre os dias 0 e 30 e um gradativo aumento entre os demais dias de armazenamento (Tabela 10). Este comportamento apresentado pela amostra poderia ser explicado devido a liberação de compostos fenólicos simples que estavam ligados em polifenóis de estruturas químicas mais complexas (MURTAZA et al., 2020).

Determinou-se a atividade antioxidante das amostras por meio de três métodos distintos. Essa prática se faz necessária uma vez que os compostos antioxidantes podem desempenhar sua atividade pelo mecanismo de transferência de átomos de hidrogênio (HAT, *scilicet* em inglês), ou pelo mecanismo de transferência de elétron único (SET, sigla em inglês). As determinações das atividades antioxidantes pelos métodos ABTS e DPPH podem ser tanto SET quanto HAT, conforme o composto antioxidante. Por outro lado, a determinação pelo método FRAP dá-se somente por HET (SANTOS-SÁNCHEZ et al., 2019; SHAHIDI, ZHONG, 2015).

Quanto ao DPPH (Tabela 10), as quedas da atividade antioxidante das amostras entre os dias de armazenamento 0 e 180 variaram entre 43,77 a 55,46 %. Considerando a atividade antioxidante desempenhada por CA no início do monitoramento, P80, apresentou quedas de 16,84 e 53,24 %, respectivamente, no início e término do monitoramento, enquanto P60 apresentou decréscimo de 6,32 e 48,97 %, nessa ordem, discriminando a pasteurização a 80 °C 15 min⁻¹ como a mais prejudicial para a conservação atividade antioxidante. Ao término do monitoramento os tratamentos não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação com os controles. Esses efeitos prejudiciais da pasteurização e do armazenamento também foram encontrados por Sulaiman, Farid e Silva (2016), onde o suco clarificado de maçã cv. Royal Gala teve uma redução de 18,7 % da sua atividade antioxidante após a pasteurização (75 °C 20 min⁻¹) e que durante o armazenamento de 1 e 30 d a 3 °C, o suco pasteurizado demonstrou, respectivamente, quedas de 2,6 e 9,8 % na sua atividade antioxidante, e que a 20 °C, houveram reduções de 3,9 e 16,5 %, na mesma ordem. O mesmo comportamento também foi observado em outras matrizes, como observaram Rios-Corripio et al. (2020) ao analisar a bebida fermentada de romã pasteurizada (63 °C 2 min⁻¹) e armazenada a 4 °C por 42 d, onde

notaram, após a pasteurização, uma queda de 6,70 % da sua atividade antioxidante e ao final do período, as perdas totalizaram 14,75 %.

A atividade antioxidante frente ao ABTS (Tabela 10) demonstrou um comportamento similar aos demais métodos, onde apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre o início e término do experimento. Pode-se observar que as amostras pasteurizadas não demonstraram diferença significativa entre si, entretanto, houve perdas significativas ($p < 0,05$) em comparação aos valores iniciais dos controles, ao término do monitoramento, onde P80 e P60 apresentaram decréscimos de 51,76 e 48,55 % respectivamente. De igual forma, Grobelna, Kalisz e Kieliszek (2019) ao analisarem suco de maçã cv. Champion pasteurizados ($85\text{ °C } 15\text{ min}^{-1}$), obtiveram perdas 42,64 % após 120 dias de armazenamento a 20 °C . Esse comportamento também foi notado em outro tipo de suco: Tembo, Holmes e Marshall (2017) submeteram suco de baobá ao tratamento térmico ($72\text{ °C } 15\text{ s}^{-1}$) e obtiveram uma redução da atividade antioxidante após 60 d de armazenamento a 6 °C de 28,30 % e justificaram a perda devido a destruição de compostos fenólicos e formação de melanoidinas pró-oxidantes. Desse modo, ao submeter a sidra a temperaturas mais altas e/ou maior tempo de exposição, pode justificar as maiores perdas encontradas para as bebidas do presente trabalho.

O método FRAP (Tabela 10) seguiu a mesma tendência dos métodos anteriores. Houveram quedas significativas ($p < 0,05$) após o período de 180 d para todas as amostras, sendo esse decréscimo compreendido entre 11,13 e 35,69 %, sendo P60 a amostra menos afetada. Nessa análise, P80 mostrou-se o tratamento térmico estatisticamente mais suscetível à perdas durante o armazenamento, sendo sua atividade antioxidante reduzida em 32,66 % ao final do monitoramento.

Observou-se também, que durante o monitoramento algumas amostras apresentaram aumentos, de atividade antioxidante em determinados dias de análise e método. No método FRAP, CA apresentou aumento entre dias 30 e 60, CR entre 0 e 30, P60 entre 60 e 180; utilizando-se DPPH, CA e CR demonstraram esse aumento entre os dias 30 e 60 e P60 teve aumento consecutivo entre os dias 0 e 60; e no método ABTS, CA e CR aumentaram suas atividades antioxidantes entre 0 e 30 (Tabela 10). Essas oscilações nas atividades antioxidantes podem estar relacionadas com a refermentação das amostras. Benvenuti et al. (2021) corroboram com essa afirmação, onde ao monitorarem compostos durante a fermentação do mosto de maçã cv. Fuji por 15 d, os autores obtiveram oscilações significativas ($p < 0,05$) em seus pontos de análise juntamente com alterações de concentração de alguns compostos fenólicos, que foram justificadas pela atuação de enzimas. Lin et al. (2022) abordam que o grau de oxidação, a taxa de crescimento e a espécie de micro-organismo também podem interferir na

atividade antioxidante da sidra. Além disso, Ferreira-Lima, Burin e Bordignon-Luiz (2013) observaram, em vinhos brancos, que a posição em que a garrafa é armazenada também interfere na atividade antioxidante da bebida.

Na Tabela 11 pode-se observar que inicialmente houveram quedas significativas ($p < 0,05$) no teor de ácido clorogênico na amostra pasteurizada P80 e na amostra S, sendo o decréscimo, nessa ordem, de 6,1 e 26,6%. Durante o armazenamento, P80 e CR performaram oscilações entre os dias 0 e 60. Os tratamentos CA, CR e S demonstraram, nessa ordem, perdas em torno de 88,4; 19,0 e 27,3% ao longo do período de armazenamento. Essas perdas podem estar relacionadas com o processo fermentativo desenvolvido pela refermentação das amostras. Corroborando com essa afirmação, Wicklund, Skottheim e Remberg (2020) ao utilizarem sete cultivares de maçãs norueguesas, observaram que durante os processos fermentativos de *blends* de mostos dessas maçãs para a produção de sidra, a concentração de ácido clorogênico decaiu de 87-200 mg L⁻¹ para 13-28 mg L⁻¹.

Quanto ao ácido cafeico, os tratamentos térmicos a 80 e 60 °C apresentaram, nessa ordem, quedas de 23,9 e 11,2 %, estando de acordo com os achados Yalçınçiray, Vural e Anli (2021), onde ocorreram perdas de 27,3 % desse componente após a pasteurização de cerveja (62-65 °C 45 min⁻¹) e a adição de sorbato de potássio 0,03 mg L⁻¹ na cerveja gerou decréscimo de 11,9 %. Após os tratamentos térmicos todas as amostras, com exceção de S (30 d), apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) em seu conteúdo. De acordo com dados da literatura, as quedas dos teores de ácido clorogênico e aumentos dos teores de ácido cafeico podem estar correlacionadas. Benvenuti et al. (2022) observaram que o teor de ácido clorogênico diminuiu de ~15 mg L⁻¹ para < 5 mg L⁻¹ após a fermentação do mosto de maçã cv. Fuji e o teor de ácido cafeico aumentou de < 2,5 mg L⁻¹ para ~10 mg L⁻¹. O mesmo comportamento foi encontrado por Nogueira et al. (2008) na sidra da cv. Kermerrien, onde o ácido clorogênico decaiu de 824 mg L⁻¹ para 749 mg L⁻¹ e o teor de ácido cafeico aumentou de 6,6 mg L⁻¹ para 41,8 mg L⁻¹, sendo este efeito, segundo os autores, devido reações de desesterificação promovidas por enzimas hidrolases das leveduras. A mesma relação entre esses ácidos pode ser observada no presente trabalho (Tabela 11).

Tabela 11: Teores médios dos compostos fenólicos individuais encontrados nas sidras

Amostra	Dias de Armazenamento	Compostos fenólicos individuais (mg L ⁻¹)							
		Ácidos hidroxicinâmicos			Flavan-3-óis			Dihidrochalconas	
		CQA	CAA	CMA	CAT	EPC	PCB2	PLZ	F2X
CRIO	0	41,7 ± 0,5	9,500 ± 0,005	2,64 ± 0,02	24,48 ± 0,1	74,5 ± 0,3	104,2 ± 0,2	16,93 ± 0,04	34,1 ± 0,5
SB	0	3,66 ± 0,04	12,1 ± 0,2	2,46 ± 0,02	8,96 ± 0,1	< LOD	< LOD	5,62 ± 0,01	5,1 ± 0,2
CA	0	11,18 ^c ± 0,06	13,4 ^d ± 0,2	3,27 ^f ± 0,04	10,4 ^{cd} ± 0,3	16,72 ^{c±} 0,5	7,8 ^e ± 0,2	7,29 ^{bc} ± 0,03	9,3 ^a ± 0,4
	30	3,77 ^j ± 0,02	15,07 ^b ± 0,03	2,95 ^g ± 0,02	11,47 ^{a±} 0,04	16,14 ^d ± 0,9	9,00 ^b ± 0,07	6,46 ^e ± 0,05	7,94 ^d ± 0,03
	60	1,30 ^k ± 0,01	16,96 ^a ± 0,04	3,59 ^d ± 0,01	11,24 ^{ab} ± 0,02	14,11 ^g ± 0,01	8,84 ^b ± 0,04	5,28 ^g ± 0,01	7,64 ^e ± 0,03
CR	0	11,18 ^c ± 0,06	13,4 ^d ± 0,21	3,27 ^f ± 0,04	10,4 ^{cd} ± 0,3	16,72 ^{c±} 0,5	7,8 ^e ± 0,2	7,29 ^{bc} ± 0,03	9,3 ^a ± 0,4
	30	6,41 ^h ± 0,01	9,91 ^h ± 0,03	2,45 ⁱ ± 0,01	7,06 ^h ± 0,08	10,38 ^j ± 0,08	6,1 ^f ± 0,4	5,22 ^g ± 0,02	6,09 ^h ± 0,01
	60	9,06 ^e ± 0,01	15,06 ^b ± 0,04	3,87 ^c ± 0,06	10,2 ^d ± 0,1	14,55 ^{fg} ± 0,04	8,1 ^{de} ± 0,1	7,4 ^b ± 0,1	8,7 ^b ± 0,2
P80	0	10,5 ^d ± 0,3	10,2 ^h ± 0,3	2,30 ^k ± 0,04	8,35 ^g ± 0,3	15,48 ^e ± 0,6	8,95 ^b ± 0,2	5,8 ^f ± 0,3	6,41 ^g ± 0,05
	30	13 ^a ± 0,2	11,2 ^f ± 0,1	2,92 ^{gh} ± 0,02	10,15 ^d ± 0,07	15,87 ^{de} ± 0,03	8,31 ^{cd} ± 0,3	6,60 ^{de} ± 0,03	8,71 ^b ± 0,02
	60	11,97 ^b ± 0,2	12,05 ^e ± 0,1	3,47 ^e ± 0,01	9,4 ^e ± 0,2	13,4 ^h ± 0,1	5,07 ^g ± 0,06	7,11 ^c ± 0,1	8,39 ^c ± 0,01
P60	0	11,7 ^b ± 0,4	11,9 ^e ± 0,4	2,89 ^h ± 0,08	10,3 ^d ± 0,03	17,26 ^b ± 0,5	8,44 ^c ± 0,2	6,79 ^d ± 0,02	8,49 ^c ± 0,05
	30	10,68 ^d ± 0,02	14,80 ^{bc} ± 0,04	4,15 ^b ± 0,03	11,09 ^b ± 0,09	18,52 ^a ± 0,03	13,3 ^a ± 0,2	7,86 ^a ± 0,02	9,14 ^a ± 0,03
	60	8,51 ^f ± 0,01	14,68 ^c ± 0,06	4,33 ^a ± 0,03	10,65 ^c ± 0,01	14,9 ^f ± 0,3	6,0 ^f ± 0,2	7,3 ^b ± 0,1	9,16 ^a ± 0,08
S	0	8,2 ^g ± 0,2	11,8 ^e ± 0,3	2,36 ^k ± 0,03	8,8 ^f ± 0,1	14,8 ^{ff} ± 0,6	8,21 ^{cd} ± 0,20	6,6 ^{de} ± 0,2	7,6 ^e ± 0,2
	30	5,96 ⁱ ± 0,02	10,58 ^g ± 0,03	2,73 ⁱ ± 0,03	8,95 ^f ± 0,02	12,5 ⁱ ± 0,3	6,09 ^f ± 0,07	5,1 ^g ± 0,1	6,63 ^f ± 0,02

Nota 1: CRIO: Suco de maçã Granny Smith crioconcentrado; SB: Sidra base; CA: Sidra controle armazenada em temperatura ambiente; CR: Sidra controle armazenada sob refrigeração; P80: Sidra pasteurizada à 80 °C 15 min⁻¹; P60: Sidra pasteurizada à 60 °C 15 min⁻¹; S: Sidra tratada com sorbato de sódio 0,03 mg L⁻¹.

Nota 2: CQA: Ácido clorogênico; CAA: Ácido cafeico; CMA: Ácido *p*-cumárico; CAT: (+)-catequina; EPC: (-)-epicatequina; PCB2: procianidina B2; PLZ: floridzina; F2X: Floretin-2-xiloglucosídeo.

Para o ácido cumárico (Tabela 11) pode-se observar que houve uma queda significativa ($p < 0,05$) em sua concentração no dia 0 do monitoramento para as amostras tratadas, sendo que P80, P60 e S apresentaram, respectivamente, um decréscimo de 29,7; 11,6 e 27,8 % quando comparadas aos controles, estando de acordo com Yueste et al. (2020), onde o tratamento térmico ($94\text{ }^{\circ}\text{C } 10\text{ min}^{-1}$) culminou na perda de 68,9 % desse componente em purê de maçã de polpa vermelha. CA, CR e S apresentaram oscilações entre o início e o término do período, sendo que, ao fim dos 60 d, aumentos significativos ($p < 0,05$) foram observados para todas as amostras.

Quanto aos flavan-3-óis, a catequina apresentou oscilações durante o monitoramento de 60 d, sendo que ao término desse período, S apresentou menor teor desse composto. Pode-se observar também, que a pasteurização a $80\text{ }^{\circ}\text{C } 15\text{ min}^{-1}$ causou uma perda inicial significativa ($p < 0,05$) de 19,7% desse componente. Epicatequina também apresentou uma queda significativa ($p < 0,05$) de 7,4 % após a pasteurização nessa mesma condição, P60 apresentou um aumento de 3,2 % no teor desse polifenol e a adição de sorbato de potássio (S) na concentração de $0,03\text{ mg L}^{-1}$ causou perda significativa ($p < 0,05$) de 11,5% em sua concentração. Durante o período de monitoramento, houveram oscilações na concentração desse composto nas amostras, entretanto, ao término dos 60 d, todas as amostras apresentaram quedas significativas ($p < 0,05$) de 15,6; 13,0; 13,4; 13,7 e 15,5 % para CA, CR, P80, P60 e S, respectivamente. Analisando-se a procianidina B2, nota-se que os tratamentos causaram aumentos significativos ($p < 0,05$) de 14,7; 8,2 e 5,2 %, respectivamente, nas amostras P80, P60 e S. No entanto, essas amostras apresentaram quedas significativas ($p < 0,05$) ao término do período, diferentemente dos controles, onde os mesmos apresentaram aumentos significativos ($p < 0,05$) de 22,8 e 3,8% para CA e CR, nessa ordem, em comparação com seus teores iniciais. Os aumentos nos teores de epicatequina após o tratamento térmico a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ e de procianidina B2 após a pasteurização a 60 e $80\text{ }^{\circ}\text{C}$, também foram observados por Ramos-Aguilar et al. (2017), onde os teores desses compostos aumentaram, respectivamente, de 3,2 e $10,1\text{ mg L}^{-1}$ para $6,6$ e $15,4\text{ mg L}^{-1}$ após a pasteurização ($90\text{ }^{\circ}\text{C } 60\text{ s}^{-1}$). Os autores atribuíram esse comportamento às temperaturas induzirem a quebra de ligações interflavonóides, acarretando em um aumento de seus monômeros e dímeros. Não obstante, as oscilações dos teores encontrados desses flavan-3-óis podem ser explicadas por reações de epimerização, clivagem, auto-oxidação e oxidação enzimática, sendo os eventos dependentes da concentração de oxigênio solubilizado, do pH e temperatura conforme revisaram Liu et al. (2021).

Observando-se as dihidrochalconas (Tabela 11), nota-se que, inicialmente, os

tratamentos ocasionaram quedas significativas ($p < 0,05$) nos teores de floridzina, sendo que P80 causou a maior perda, sendo 11,0 %, seguida pelas perdas de S e P60, que perderam, respectivamente, 9,5 e 6,7 % da concentração inicial desse composto. Ao decorrer do armazenamento, as amostras pasteurizadas demonstraram aumento significativo ($p < 0,05$) ao término do período. Essa performasse também foi observada em suco pasteurizado de maçãs cv. Golden Delicious armazenado em temperatura ambiente por 14 d, onde houve aumento significativo desse composto de 31,1 para 43,8 mg L⁻¹ (MARAGÒ et al., 2015). Da mesma forma, os tratamentos causaram quedas significativas ($p < 0,05$) no teor de Floretin-2-xiloglicosídeo inicial (Tabela 12), com as pasteurizações a 80 e 60 °C tendo reduzido esse teor em cerca de 31,1 e 8,7 %, estando de acordo com Suárez-Jacobo et al., (2011), que observou uma queda de 9,8 % desse composto em suco de maçã clarificado cv. Golden Delicious após a pasteurização a 90 °C 4 min⁻¹. Oscilações deste composto também foram observadas em maçãs cvs. Annurca Tradicional, Red Delicious, Golden Delicious e Empire durante o armazenamento refrigerado (2 °C por 0, 3 e 4 meses), por Napolitano et al. (2004), onde os autores encontraram quedas de até 32,2 % e aumentos de até 60,0 % dependendo da cultivar e do mês analisado.

Como discutido, alterações nos parâmetros anteriores podem desempenhar alterações sensoriais da sidra, o que inclui, portanto, sua coloração. Na Tabela 12 constam os resultados médios obtidos para os parâmetros de cor L*, a* e b*, além do Chroma e ângulo hue. O valor de L* representa a luminosidade da amostra e varia de 0 a 100, sendo que: quanto mais próximo de 100, mais clara é a amostra. a* e b* representam a tonalidade da amostra, sendo a* referente à escala de verde (valores negativos) ao vermelho (valores positivos) e b* à escala do azul (valores negativos) ao amarelo (valores positivos).

Ao analisar os parâmetros de luminosidade (L*) (Tabela 12), notou-se, no início do monitoramento, que as amostras apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre si, sendo que P80 foi a amostra com maior valor no início do monitoramento (Tabela 12). No dia 30, observou-se uma queda acentuada e significativa ($p < 0,05$) em comparação aos valores anteriores, destacando-se as amostras S, CA e P80, que sofreram, respectivamente, uma perda de luminosidade de aproximadamente 10,2; 7,3 e 4,7 % (Tabela 12). Quanto ao dia de monitoramento 60, notou-se que as amostras pasteurizadas e CA apresentaram, estatisticamente ($p < 0,05$) os menores valores. Esse comportamento se estendeu até o fim do monitoramento (Tabela 12).

Tabela 12: Parâmetros de cor para sidras com diferentes tratamentos de conservação, armazenadas durante 180 d

Amostra	Dias de Armazenamento	L*	a*	b*	°Hue	Chroma
CA	0	93,98 ^b ± 0,3	-1,13 ^p ± 0,03	30,56 ^h ± 0,07	92,11 ^b ± 0,05	30,58 ^h ± 0,07
	30	87,1 ^j ± 0,3	0,55 ^j ± 0,03	24,41 ^k ± 0,15	87,89 ⁱ ± 0,07	24,4 ^k ± 0,2
	60	87,88 ⁱ ± 0,04	0,88 ⁱ ± 0,01	23,81 ^l ± 0,09	88,70 ^h ± 0,03	23,83 ^l ± 0,08
	180	83,04 ^l ± 0,02	1,17 ^h ± 0,01	24,28 ^k ± 0,01	87,25 ^k ± 0,01	24,31 ^k ± 0,01
CR	0	93,98 ^b ± 0,03	-1,13 ^p ± 0,01	30,56 ^h ± 0,02	92,11 ^b ± 0,02	30,58 ^h ± 0,02
	30	92,92 ^{de} ± 0,01	-0,43 ⁿ ± 0,01	33,42 ^e ± 0,01	90,75 ^d ± 0,01	33,41 ^e ± 0,01
	60	93,5 ^f ± 0,03	-0,13 ^l ± 0,01	33,67 ^d ± 0,02	90,22 ^f ± 0,01	33,67 ^d ± 0,02
	180	92 ^{ef} ± 1	0,4 ^k ± 0,2	28,65 ⁱ ± 0,54	89,3 ^s ± 0,3	28,7 ⁱ ± 0,6
P80	0	95,62 ^a ± 0,03	-0,23 ^m ± 0,02	25,30 ^j ± 0,04	90,53 ^e ± 0,02	25,30 ^j ± 0,04
	30	91,09 ^g ± 0,02	1,58 ^f ± 0,01	31,14 ^g ± 0,01	87,10 ^l ± 0,01	31,18 ^g ± 0,01
	60	88,80 ^h ± 0,01	3,58 ^c ± 0,01	37,72 ^c ± 0,02	84,57 ^o ± 0,01	37,89 ^e ± 0,02
	180	83,62 ^k ± 0,03	8,28 ^a ± 0,01	43,65 ^a ± 0,02	79,26 ^q ± 0,01	44,43 ^a ± 0,02
P60	0	93,56 ^c ± 0,03	-1,62 ^q ± 0,01	22,49 ^m ± 0,01	94,14 ^a ± 0,02	22,55 ^m ± 0,01
	30	90,99 ^g ± 0,02	1,25 ^g ± 0,01	30,44 ^h ± 0,02	87,64 ⁱ ± 0,01	30,46 ^h ± 0,02
	60	88,10 ⁱ ± 0,01	3,11 ^d ± 0,01	38,22 ^b ± 0,04	85,35 ⁿ ± 0,02	38,35 ^b ± 0,04
	180	82,21 ^m ± 0,02	7,90 ^b ± 0,01	43,69 ^a ± 0,04	79,75 ^p ± 0,02	44,39 ^a ± 0,04
S	0	93,19 ^k ± 0,03	-0,64 ^o ± 0,02	31,32 ^s ± 0,09	91,13 ^c ± 0,02	32,52 ^f ± 0,08
	30	83,69 ^d ± 0,01	1,82 ^e ± 0,01	32,5 ^f ± 0,2	86,67 ^m ± 0,01	32,37 ^g ± 0,2

Nota 1: CA: Sidra controle armazenada em temperatura ambiente; CR: Sidra controle armazenada sob refrigeração; P80: Sidra pasteurizada à 80 °C 15 min⁻¹; P60: Sidra pasteurizada à 60 °C 15 min⁻¹; S: Sidra tratada com sorbato de sódio 0,03 mg L⁻¹.

Quanto ao parâmetro a*, pode-se notar que todas as amostras apresentaram coloração verde e todas apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) entre si, com exceção de CA e CR, no dia 0, sendo P60 a amostras mais verde (Tabela 12). Após 30 d, observou-se uma mudança abrupta na coloração das amostras, que passaram do verde para o vermelho, com exceção de CR, que se manteve verde (Tabela 12). Nos dias 60 e 180, o aumento dos valores desse parâmetro foram constantes e CR passou a ser vermelho no último dia analisado e, nesse dia, as amostras pasteurizadas apresentaram-se como as mais vermelhas (Tabela 12). Desse modo, pode-se afirmar que, durante o armazenamento, as amostras apresentaram tendência à coloração vermelha. O mesmo comportamento foi observado em suco de maçã turvo cvs. Keuleman, Pomme Henri, Boskoop, Court Pendu, Bellefleur, Cgascoigner, Zaailling, Jonagold pasteurizado (1: 72 °C 15 s⁻¹ e 2: 85 °C 30 s⁻¹), por Wibowo, et al. (2019). Os autores obtiveram valores iniciais de a* de 0,24 e após as pasteurizações 1 e 2, esse parâmetro aumentou para 1,91 e 1,68, respectivamente, e, após três semanas de armazenamento refrigerado (4 °C), os valores aumentaram para 5,68 e 2,61, na mesma ordem.

Ao contrário de a*, o parâmetro b* não apresentou valores negativos (Tabela 12), como era esperado, uma vez que sidras possuem coloração amarelada. No início, observou-se que as amostras pasteurizadas apresentaram, estatisticamente ($p < 0,05$) os menores valores.

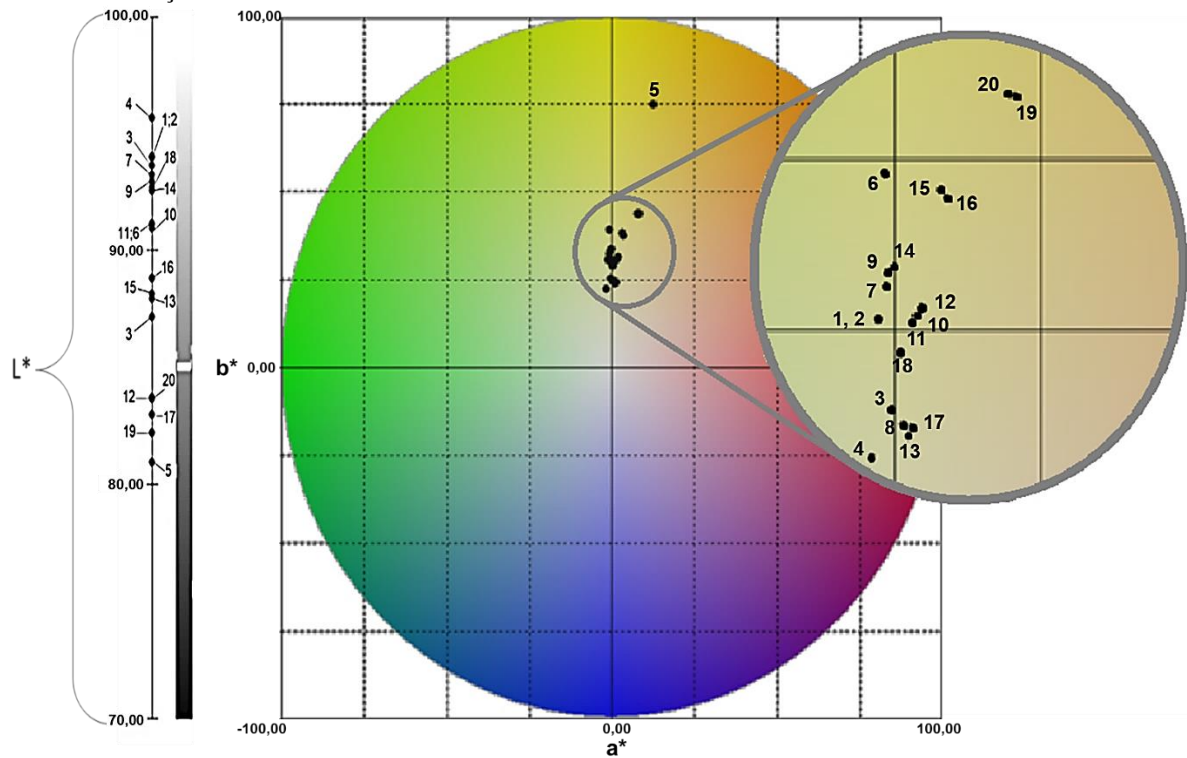
No entanto, no dia de armazenamento 30, apresentaram significativo aumento ($p < 0,05$) e se igualaram a S. No dia 60, ultrapassaram CR e se consolidaram como as amostras, estatisticamente ($p < 0,05$), mais amarelas até o final do monitoramento, seguidas por CR e CA, respectivamente (Tabela 13). As amostras pasteurizadas encontram-se de acordo com o encontrado por Azhuvalappil et al. (2010), onde os autores observaram, em sucos de maçã pasteurizados ($76\text{ }^{\circ}\text{C } 1,3\text{ s}^{-1}$), um aumento de b^* , partindo de 5,93 para 6,63 e 6,78 após 2 e 4 semanas de armazenamento ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$), respectivamente.

Pode-se observar que o $^{\circ}\text{Hue}$ apresentou queda significativa após a pasteurização a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ e com a adição de sorbato de potássio ($0,03\text{ mg L}^{-1}$). Ao decorrer do monitoramento, todas as amostras apresentaram declínio constante nos valores desse parâmetro. Desse modo, pode-se notar que as amostras que antes situavam-se próximas à tonalidade amarela (90°), tenderam à tonalidade vermelha (0 e 360°) ao decorrer do monitoramento, apresentando, portanto, tonalidade alaranjada devido a esse deslocamento em direção ao vermelho. Esse comportamento encontra-se de acordo com o observado por Wibowo et al. (2019), onde o suco de maçãs, que inicialmente apresentou valor de 89,21 para este parâmetro, após pasteurizado (1: $72\text{ }^{\circ}\text{C } 15\text{ s}^{-1}$ e 2: $85\text{ }^{\circ}\text{C } 30\text{ s}^{-1}$), apresentou valores de 86,67 e 86,85 nas condições 1 e 2, respectivamente, e após período de três semanas sob refrigeração ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$), apresentou $^{\circ}\text{Hue}$ de 78,20 e de 84,44, na mesma ordem.

O Chroma representa a saturação da cor e seus valores variam de 0 a 100, sendo que quanto menor o valor, mais acinzentada ou neutra e quanto mais alto o valor, mais pura ou vibrante é a cor. Inicialmente, neste sentido, as amostras pasteurizadas se apresentaram com as cores menos puras. No dia 30, CA e S apresentam uma queda significativa ($p < 0,05$) em suas saturações e as demais amostras demonstraram um aumento em sua pureza. As amostras demonstraram esse comportamento para os dias 60 e 180, com exceção de CR, em que sua saturação teve um decréscimo significativo ($p < 0,05$) (Tabela 12).

Os comportamentos apresentados pelas amostras podem ser observados no círculo cromático apresentado na Figura 5. De forma geral, as amostras diminuíram sua luminosidade conforme decorria o monitoramento, ou seja, ficaram mais escuras; passaram a assumir uma cor mais vermelha e amarela, como demonstrado pelo parâmetro a^* e b^* . As tonalidades das amostras partiram do amarelo em direção ao vermelho, compondo uma coloração mais alaranjada e o tratamento de pasteurização aumentou a saturação da cor das amostras.

Tabela 13: Posição cartesiana das amostras no sistema CIELAB*



Fonte: O autor.

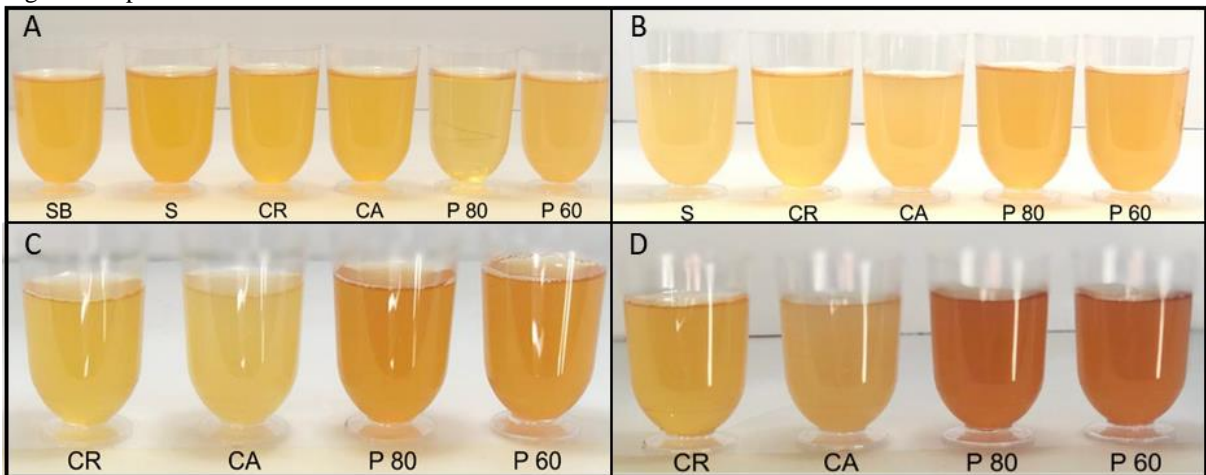
Nota 1: L*: Luminosidade; a* Parâmetro verde-vermelho; b*: Parâmetro azul-amarelo.

Nota 2: A legenda será dada da seguinte forma: o número indicado na imagem = sigla da amostra – dia de armazenamento (e.g. 1: CA-0). Onde: CA: Controle ambiente; CR: Sidra controle armazenada sob refrigeração; P80: Sidra pasteurizada à 80 ° C 15 min⁻¹; P60: Sidra pasteurizada à 60 ° C 15 min⁻¹; SB: Sidra base; Crio: suco crioconcentrado de maçã cv. Granny Smith e 0: dia 0; 1: dia 30; 2: dia 60; 3: dia 180.

Nota 3: 1: CA-0, 2: CR-0, 3: P80-0, 4: P60-0, 5: Crio-0, 6: SB-0, 7: S-0, 8: CA-1, 9: CR-1, 10: P80-1, 11: P60-1, 12: S-1, 13: CA-2, 14: CR-2, 15: P80-2, 16: P60-2, 17: CA-3, 18: CR-3, 19: P80-3, 20: P60-3.

As mudanças de cor nas sidras podem ser observadas na Figura 6. Em uma análise subjetiva, notou-se que as amostras apresentaram diferença de coloração entre si desde o início do monitoramento, sendo a sua percepção acentuada ao longo do tempo. No início (A), pode-se perceber que apenas as amostras P80 e P60 apresentaram ligeira diferença de coloração e P80 apresentou-se mais cristalina.

Figura 8: Aparência das sidras durante o monitoramento



Fonte: O autor.

Nota 1: A: Início do monitoramento; B: 30 d após o início do monitoramento; C: 60 d após o início do monitoramento; D: 180 d após o início do monitoramento.

Nota 2: SB: Sidra base; S: Sidra tratada com sorbato de potássio $0,03 \text{ mg L}^{-1}$; CA: Sidra controle armazenada em temperatura ambiente; CR: Sidra controle armazenada sob refrigeração; P80: Sidra pasteurizada à $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 15 min^{-1} ; P60: Sidra pasteurizada à $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 15 min^{-1} .

A cristalinidade dessa amostra pode estar relacionada com a temperatura a que ela foi submetida. Millet et al. (2019) observaram que ao submeterem *pommeau* (bebida envelhecida elaborada a partir de mosto e aguardente de maçãs) à temperatura de $65 \text{ }^{\circ}\text{C}$, sua turbidez tinha desaparecido e posteriormente retornado. Segundo os autores, a turbidez é causada pela associação de polifenóis, como procianidinas, com outras macromoléculas, como proteínas, ou pela auto-oxidação dos fenólicos e o seu desaparecimento é advindo da desagregação desses compostos causada pela temperatura, numa interação reversível.

Aos 30 d de monitoramento (B), pode-se distinguir claramente P80 e P60 das demais amostras. Considerando a aparência das amostras CA, CR e S com os resultados microbiológicos (Tabela 8; Seção 5.2), pode-se notar que o crescimento de micro-organismos aumentou a turbidez dessas amostras, deixando-as ainda mais opacas e com aparência pálida. Além disso, a distinção entre P80 e P60 foi perdida.

A partir dos 60 d de armazenamento (C), notou-se que os controles se distinguem de forma acentuada, sendo CR mais escuro e brilhante e CA mais claro e opaco. Por outro lado, as amostras pasteurizadas continuam indistinguíveis visualmente. O mesmo comportamento se repete para os 180 d de armazenamento (D), sendo que a turbidez de CA foi agravada. Joshi e Attri (2017) abordam que essa turbidez causada durante o armazenamento pode ser advinda da complexação de taninos com proteínas; atuação da enzima peroxidase sobre taninos; ou à *Frambroasé*, que se caracteriza pela presença de bactérias *Zymomonas* que fermentarão os açúcares presentes e produzirão acetaldeídos, que, por sua vez, interagirão

com polifenóis, formando compostos insolúveis. Ademais, essas interações podem justificar, devido ao consumo e interações de compostos fenólicos, o porquê de CA não ter seguido o mesmo comportamento de escurecimento das demais amostras, uma vez que se foi detectado formação de uma substância esbranquiçada na interface *sidra-head space* das garrafas no dia 180 de armazenamento.

As alterações de coloração das amostras foram bastante pronunciadas e podem ser explicadas por reações não enzimáticas, como a oxidação de catequinas por produtos de oxidação de polifenóis pela polifenoloxidase, denominados “quinonas”, ou pela auto-oxidação de catequinas (LIU et al., 2022) e interação de quinonas com flavanóis (MA, WATERHOUSE, 2018). Ortega, Mayen e Medina (2008) ao analisarem o envelhecimento acelerado de vinho branco durante 104 e 109 semanas, observaram mudanças significativas na cor do vinho e justificaram a mudança devido a oxidação e polimerização de compostos fenólicos presentes no vinho. Dentre os fenólicos, os autores indicaram, via análise multivariada de componentes principais (PCA), que os compostos de maior peso obtiveram maior influência sobre o escurecimento da bebida. Yang et al. (2020), ao estudarem fermentados de pêra armazenados a 25 °C durante 15 semanas, obtiveram que o escurecimento das amostras apresentou forte relação com o teor de polifenóis seguido pela concentração de oxigênio dissolvido na bebida. Além disso, segundo Wibowo et al. (2015), durante o armazenamento em condições ácidas, os açúcares podem ser decompostos e formarem polímeros de coloração marrom, como o 5-hidroxiacetilfurfural.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao analisar os resultados microbiológicos, pode-se afirmar que etapa de higienização e sanitização das amostras foi satisfatória, haja vista que Coliformes termotolerantes e *E. coli* apresentaram a contagem mínima determinada pelo método de Número Mais Provável (NMP) e detectou-se ausência de *Salmonella* spp. nas amostras controles (CA e CR). Os resultados apresentados, incluído as demais amostras, encontram-se em conformidade com a legislação vigente.

Os tratamentos de pasteurização, tanto a 60 quanto a 80 °C 15 min⁻¹, foram os mais efetivos em reduzir as cargas microbianas de fungos e leveduras e de bactérias lácticas e estabilizar microbiologicamente as bebidas, haja vista que ao decorrer do monitoramento, suas populações se apresentaram menores em comparação com os controles e com a sidra adicionada de sorbato de potássio. Nota-se, também, que P80 foi o tratamento mais efetivo na redução da população desses microrganismos.

Embora o controle microbiológico seja o fator mais importante para garantir a segurança de um produto, fatores nutricionais e sensoriais devem ser considerados na estimativa da vida de prateleira desse produto. Nas sidras elaboradas no presente trabalho, de forma geral, notaram-se grandes perdas, entre os 60 e 180 d de monitoramento, de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante e um aumento significativo no escurecimento das bebidas, sugerindo que: a vida de prateleira da sidra foi melhor estabelecida em 60 d. E, dentre as pasteurizações, P60 apresentou os melhores resultados para o teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante (FRAP e DPPH), e, sua contagem microbiológica, embora tenha apresentado uma população ligeiramente maior, que a pasteurização mais severa, manteve as populações na mesma ordem (10³ UFC mL⁻¹). Não obstante, em uma análise sensorial, provavelmente sua aceitação seria maior devido sua condição de tratamento ser mais branda, gerando, portanto, menor impacto no sabor da bebida, evitando ou minimizando o “gosto de cozido”.

Considerando que as amostras controles (CA e CR) apresentaram elevada contagem de micro-organismos e não se mantiveram estáveis quanto ao preconizado pela legislação vigente, seu prazo de validade comercial seria inferior a 30 d. Os prazos de validade das amostras P80 e P60 seriam melhor estabelecidos em até 60 dias, sendo que P60 se mostrou o melhor tratamento. E o prazo de validade de S será tratado como inconclusivo, uma vez que seu monitoramento foi suspenso devido ao crescimento exacerbado de micro-organismos.

REFERÊNCIAS

- ABPM – **Associação Brasileira de Produtores de Maçã**, 2021. Disponível em: <https://www.abpm.org.br/maca-e-tudo-de-bom/2021-calendario-janeiro_maca_brasileira > Acesso em: 10 ago. 2021.
- ACHIR, N.; DHUIQUE-MAYER, C.; HADJAL, T.; MADANI, K.; PAIN, J. P.; DORNIER, M. Pasteurization of citrus juices with ohmic heating to preserve the carotenoid profile. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.33, p. 397-404. 2016
- AGUSTINAH, W.; SARKAR, D.; WOODS, F.; SHETTY, K. Apple and blueberry synergies for designing bioactive ingredients for the management of early stages of type 2 diabetes. **Journal of Food Quality**, v.39(4), p.370–382, 2016.
- ALBERTI A, NOGUEIRA A. Cider. In: CASTILHOS, M. B., M.; BIANCHI, V., L.; MANFROI, V. **Fermented and distilled alcoholic beverages: a technological, chemical and sensory overview**, Nova York: Nova Science publishers. 2021, 206p.
- ALBERTI, A.; SANTOS, T. P. M.; ZIELINSKI, A. A. F.; SANTOS, C. M. E.; BRAGA, C. M.; DEMIATE, I. M.; NOGUEIRA, A. Impact on chemical profile in apple juice and cider made from unripe, ripe and senescent dessert varieties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 436-443, 2016.
- 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.
- ALBERTI, A.; ZIELINSKI, A. A. F.; ZARDO, D. M.; DEMIATE, I. M.; NOGUEIRA, A.; MAFRA, L. I. Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 149, p. 151–158, 2014.
- ALBUQUERQUE, M. V.; SANTOS, A. S.; CERQUEIRA, N. T. V.; SILVA, J. A. Educação alimentar: uma proposta de redução de consumo de aditivos alimentares. **Química Nova Escola**, v. 34, p. 51 – 57, 2012.
- ALEXANDER, T.R.; COLLINS, T. S.; MILES, C. A. Comparison of the phenolic profiles of juice and cider derived from machine-and hand-harvested ‘Brown Snout ’specialty cider apples in Northwest Washington. **HortTechnology**, v. 29, p. 423-433. 2019.
- LHARBI, S.A.; WAINWRIGHT, M.; ALAHMADI, T.A.; SALLEEH, H.B.; FADEN, A.A.; CHINNATHAMBI, A. What if Fleming had not discovered penicillin? **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.21, p. 289-293, 2014.
- ALMEIDA, E. L. M.; SILVA, M. S.; ELLER, M. R. Bebidas alcoólicas fermentadas. In: MARTIN, J. G. P.; LINDNER, J. D. **Microbiologia de alimentos fermentados**. 1. ed. São Paulo: Blucher, 2022.
- ALMEIDA, F. L. C.; OLIVEIRA, E. N. A.; ALMEIDA, E. C.; SILVA, M. O.; ARAUJO, L. F. S.; SILVA, L. N.; DANTAS, R. V. C.; POLARI, I. L. B. Estudo do processo fermentativo de bebidas alcoólicas de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes). **Holos**. v.3, e8961, 2020.

- ALONSO, S.; LACA, A.; RENDUELES, M.; MAYO, B.; DÍAZ, M. Cider apple native microbiota characterization by PCR-DGGE. **Journal of Institute of Brewing**, v. 121, p. 287–289, 2015.
- ALONSO-SALCES, R. M.; 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 Food Chemistry**, v. 49 p. 3761 - 3767, 2001.
- AMRUTHA, B.; SUNDAR, K.; SHETTY, P. H. Study on *E. coli* and *Salmonella* biofilms from fresh fruits and vegetables. **Journal of food science and technology**, v. 54, p. 1091-1097, 2017.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, 2007.
- ASCHEMANN-WITZEL, J. Consumer perception and preference for suboptimal food under the emerging practice of expiration date based pricing in supermarkets. **Food Quality and Preference**, v. 63, p. 119-128, 2018.
- AUNG, M. T.; LEE, P.R.; YU, B.; LIU, S. Q. Cider fermentation with three *Williopsis saturnus* yeast strains and volatile changes. **Annals of Microbiology**, v. 65, p. 921-928, 2015.
- AWUCHI, C. G.; TWINOMUHWEZI H, IGWE VS, AMAGWULA IO. Food additives and food preservatives for domestic and industrial food applications. **Journal of Animal Health**, v.2: 16 p. 2020
- AZEREDO H. M. C. **Fundamento de estabilidade de alimentos**. Brasília: Embrapa, 2012, 326 p.
- AZEREDO, D. R. P.; ALVARENGA, V.; SANT'ANA, A. S.; SABA, A.; SRUR, A. U. O. An overview of microorganisms and factors contributing for the microbial stability of carbonated soft drinks. **Food Research International**, v. 82, p. 136-144, 2016.
- AZHUVALAPPIL, Z.; FAN, X.; GEVEKE, D. J.; ZHANG, H. Q. Thermal and nonthermal processing of apple cider: storage quality under equivalent process conditions. **Food Quality**, v. 33, p. 612-631, 2010.
- BARROS, D. M; SILVA, A. P. F.; MOURA, D. F.; MEDEIROS, S. M. F. R. S.; CAVALCANTI, I. D. L.; SILVA, J. H. L.; LEITE, A. R. F.; SANTOS, J. M. S.; MELO, M. A.; COSTA, J. O. Principais Técnicas de Conservação dos Alimentos. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, p. 806 - 821, 2020.
- BATZER, J. C.; SISSON, A. J.; HARRINGTON, T. C.; MAYFIELD, D. A.; GLEASON, M. L. Temporal patterns in appearance of sooty blotch and flyspeck fungi on apples. **Microbial Ecology**, v. 64, p. 928 - 941, 2012.
- BEDRIÑANA, R. P.; LOBO, A. P.; VALLES, B. S. Influence of the method of obtaining freeze-enriched juices and year of harvest on the chemical and sensory characteristics of Asturian ice ciders, **Food Chemistry**, v. 274, p. 376-383, 2019.
- BENITO, S. Combined use of lachancea thermotolerans and schizosaccharomyces pombe in winemaking: a review. **Microorganisms**, v. 8, 655, 2020.

BENSID, A.; ABED, N. E.; HOUICHER, A.; REGENSTEIN, J. M.; ÖZOGUL, F. Antioxidant and antimicrobial preservatives: properties, mechanism of action and applications in food: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1-17. 2020.

BENVENUTTI, L.; BORTOLINI, D. G.; FISCHER, T. E.; ZARDO, D. M.; NOGUEIRA, A.; ZIELINSKI, A. A. F.; ALBERTI, A. Bioactive compounds recovered from apple pomace as ingredient in cider processing: monitoring of compounds during fermentation. **Food Science and Technology**. 2021.

BENVENUTTI, L.; BORTOLINI, D. G.; NOGUEIRA, A.; ZIELINSKI, A. A. F.; ALBERTI, A. Effect of addition of phenolic compounds recovered from apple pomace on cider quality. **LWT - Food Science and Technology**, p. 348 - 354, 2019.

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**, v. 239, p. 70-76, 1996.

BHALERAO, P. P.; CHAKRABORTY, S. Integrated calculation of pasteurization time: a case study for thermal inactivation kinetics of a mixed fruit beverage. **Journal of Food Process Engineering**, v. 44, e13761, 2021.

BILLAUD, C.; BRUN-MÉRIMÉE, S.; LOUARME, L.; NICOLAS, J. Effect of glutathione and Maillard reaction products prepared from glucose or fructose with glutathione on polyphenoloxidase from apple—I: Enzymatic browning and enzyme activity inhibition. **Food Chemistry**. v.84(2), p.223-233, 2004.

BORTOLINI, D. G.; BENVENUTTI, L.; DEMIATE, I. M.; NOGUEIRA, A.; ALBERTI, A.; ZIELINSKI, A. A. F. A new approach to the use of apple pomace in cider making for the recovery of phenolic compounds. **LWT - Food Science and Technology**. v.126, 109316, 2020.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, p. 25 - 30, 1995.

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

BRASIL. Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada nº 397, de 25 de junho de 2020. Autoriza o uso de aditivos alimentares em diversas categorias de alimentos. **Diário Oficial da União**. Brasília, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2002. Resolução de Diretoria Colegiada nº 259, de 20 de setembro de 2002. Aprova o regulamento técnico sobre rotulagem de alimentos embalados. **Diário Oficial da União**. Brasília, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 1997. Portaria nº 540 de 27 de outubro de 1997. Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares: definições, classificações e emprego. **Diário Oficial da União**, Brasília, 1997.

BUCHANAN, R. L.; EDELSON, S. G. Effect of pH-dependent, stationary phase acid resistance on the thermal tolerance of *Escherichia coli* O157:H7. **Food Microbiology**, v. 16, p. 447-458, 1999.

- CALUGAR, P. C.; COLDEA, T. E.; SALANȚĂ, L. C.; POP, C. R.; PASQUALONE, A.; BURJA-UDREA, C.; ZHAO, H.; MUDURA, E. An overview of the factors influencing apple cider sensory and microbial quality from raw materials to emerging processing technologies. **Processes**, v. 9, 2021.
- CARVALHO, J. R.; SILVA, K. M.; SIMÕES, D. R. S.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Elaboração de fermentado frisanter de maçã com características semelhantes à sidra francesa. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 97-114, 2010.
- CASAS-FORERO, N.; ORELLANA-PALMA, P.; PETZOLD, G. Recovery of solutes from ice and concentrated fractions in centrifugal block cryoconcentration applied to blueberry juice. **Food and Bioprocess Technology**, V. 14, P. 1155-1168, 2021.
- CHATTOPADHYAY, S.; KAUR, A.; JAIN, S.; SABHARWAL, P. K.; SINGH, H. Functionalized polymeric magnetic nanoconstructs for selective capturing and sensitive detection of *Salmonella typhimurium*. **Analytica chimica acta**, v. 937, p. 127-135, 2016.
- CHEN, Y.; YU. L. J.; RUPASINGHE H. P. V. J. Effect of thermal and non-thermal pasteurisation on the microbial inactivation and phenolic degradation in fruit juice: a mini-review. **Science of Food and Agriculture**, v. 93, p. 981-986, 2013.
- CHUNG, C. C.; HUANG, T. C.; YU, C. H.; SHEN, F. Y.; CHEN, H. H. Bactericidal effects of fresh-cut vegetables and fruits after subsequent washing with chlorine dioxide. **International Conference on Food Engineering and Biotechnology**, v.9, p.107–112, 2011.
- CILINDRE, C.; LIGER-BELAIR, G.; VILLAUME, S.; JEANDET, P.; MARCHAL, R. Foaming properties of various champagne wines depending on several parameters: Grape variety, aging, protein and CO₂ content. **Analytica Chimica Acta**. v. 660, p. 164 – 170, 2010.
- CODEX ALIMENTARIUS. **Norma general para el etiquetado de aditivos alimentarios que se venden como tales**, 2016. Disponível em: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/list-standards/en/>. Acesso em 07 set. 2021.
- COELHO, E.; VILANOVA, M.; GENISHEVA, Z.; OLIVEIRA, J. M.; TEIXEIRA, J. A.; DOMINGUES, L. Systematic approach for the development of fruit wines from industrially processed fruit concentrates, including optimization of fermentation parameters, chemical characterization and sensory evaluation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, p. 1043-1052, 2015.
- COHEN, S. D.; KENNEDY, J. A. Plant metabolism and the environment: Implications for managing phenolics. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, p. 620 - 643, 2010.
- COLLIGNON S AND KORSTEN L, Attachment and colonization by *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium, and *Staphylococcus aureus* on stone fruit surfaces and survival through a simulated commercial export chain. **Journal of Food Protection**, v.73, p.1247–1256, 2010.
- COMESKEY, D. J.; COONEY, J. M.; ROWAN, D. D. Synthesis of deuterated dihydrochalcones. **Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals**, [s. l.], v. 49, ed. 6, p. 479 - 487, 2006.

CORTÉS, S.; SALGADO, J. M.; RIVAS, M.; TORRADO, A. M.; DOMÍNGUEZ, J. M. Fermentation kinetics and chemical characterisation of vino tostado, a traditional sweet wine from Galicia (NW Spain). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, p. 121-131, 2009.

COTON, E.; COTON, M.; GUICHARD, H. Cider (cyder; hard cider): the product and its manufacture. **Encyclopedia of Food and Health**, [s. l.], p. 119 - 128, 2016.

COTTICA, S. M.; SABIK, H.; BÉLANGER, D.; GIROUX, H. J.; VISENTAINER, J. V.; BRITTEN, M. Use of propolis extracts as antioxidant in dairy beverages enriched with conjugated linoleic acid. **European Food Research and Technology**, v. 241, p. 543–551, 2015.

CURVELO-GARCIA, A. S. **Controle de Qualidade dos vinhos: química enológica – métodos analíticos. Instituto da vinha e do vinho**, 1988, 420p.

D'ABROSCA, B.; SCOGNAMIGLIO, M.; CORRADO, L.; CHIOCCHIO, I.; ZAMPELLA, L.; MASTROBUONI, F.; REGA, P.; SCORTICHINI, M.; FIORENTINO, A.; PETRICCIONE, M. Evaluation of different training systems on Annurca apple fruits revealed by agronomical, qualitative and NMR-based metabolomic approaches. **Food chemistry**, v. 222, p. 18-27. 2017.

DARIAS-MARTIN, J.; SOCAS-HERNÁNDEZ, A.; DIAZ-ROMERO, C.; DIAZ-DIAZ, E. Comparative study of methods for determination of titrable acidity in wine. **Journal of Food Composition and Analysis**. v.16(5), p.555-562, 2003.

DAVIDSON, P. M.; TAYLOR, T. M.; DAVID, J. R. D. **Antimicrobials in food**. 4. ed. Boca Raton: CRC Press, 2021.

DE PAEPE, D.; VALKENBORG, D.; COUDIJZER, K.; NOTEN, B.; SERVAES, K.; DE LOOSE, M.; VOORSPOELS, S.; DIELS, L.; VAN DROOGENBROECK, B. Thermal degradation of cloudy apple juice phenolic constituents. **Food Chemistry**. v.162, p.176-185, 2014.

DEESUTH, O.; LAOPAIBOON, P.; LAOPAIBOON, L. High ethanol production under optimal aeration conditions and yeast composition in a very high gravity fermentation from sweet sorghum juice by *saccharomyces cerevisiae*. **Industrial Crops and Products**. v.92, p. 263-270, 2016.

DEL CAMPO, G.; BERREGI, I.; SANTOS, J. I.; DUEÑAS, M.; IRASTORZA, A. Development of alcoholic and malolactic fermentations in highly acidic and phenolic apple musts. **Bioresourcer Technology**, v. 99, p. 2857-2863, 2008.

DHAR, R.; BHALERAO, P. P. CHAKRABORTY, S. Formulation of a mixed fruit beverage using fuzzy logic optimization of sensory data and designing its batch thermal pasteurization process. **Journal of Food Science**. v.2, p. 463-474, 2021.

DIERINGS, L. R.; BRAGA, C. M.; SILVA, K. M.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Population dynamics of mixed cultures of yeast and lactic acid bacteria in cider conditions. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, p. 837-847, 2013.

DOENÇAS DE TRANSMISSÃO HÍDRICA E ALIMENTAR (DTHA). Disponível em:

<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha>. Acesso em: julho 2022.

DU PONT, M. S.; BENNETT, R. N.; MELLON, F. A.; WILLIAMSON, G. Polyphenols from alcoholic apple cider are absorbed, metabolized and excreted by humans. **Human Nutrition and Metabolism**. [s.n.], 2001.

EFRAIM, P.; ALVES, A. B.; JARDIM, D. C. P. Revisão: Polifenóis em cacau e derivados: Teores, fatores de variação e efeitos na saúde. **Brazilian Journal Food Technology**, v.14, p. 181- 201, 2011.

ELHADI, D.; LV, L.; JIANG, X. R.; WU, H.; CHEN, G. Q. Crispr engineering *E. coli* for morphology diversification. **Metabolic Engineering**, v. 38, p. 358-369, 2016.

EPAGRI - **Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina**, 2021. Disponível em: < <https://www.epagri.sc.gov.br/index.php/2021/02/11/safra-catarinense-de-maca-espera-colher-metade-da-producao-nacional/>>. Acesso em: 03/08/2021.

EVERETT, K. R.; PUSHPARAJAH, I. P. S.; TIMUDO, O. E.; CHEE, A. A.; SCHEPER, R. W. A.; SHAW, P. W.; SPIERS, T. M.; TAYLOR, J. T.; WALLIS, D. R.; WOOD, P. N. Infection criteria, inoculum sources and splash dispersal pattern of *Colletotrichum acutatum* causing bitter rot of apple in New Zealand. **European Journal of Plant Pathology**. v.152, p. 367-383. 2018.

EVERETTE, J.D.; BRYANT, Q. M.; GREEN, A. M.; ABBEY, Y. A.; WANGILA, G. W.; WALKER, R. B. Thorough Study of Reactivity of Various Compound Classes toward the Folin–Ciocalteu Reagent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58(14), p. 8139-8144, 2010.

EWING, B. L.; RASCO, B. A. Food safety modernization act produce safety rule compliance for United States hard cider producers using ground-harvested apples. **Horttechnology**, v. 28, p. 698-705, 2018.

FAO - **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. [S. l.], s.d. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 29 set. 2020.

FDA: **Ingredients & colors. International Food Information Council (IFIC) Foundation US Food and Drug Administration (FDA)**. 2010. Disponível em: <https://www.fda.gov/files/food/published/Food-Ingredients-and-Colors-%28PDF%29.pdf>. Acesso em: 31 set. 2020.

FERNÁNDEZ-NIÑO, M.; MARQUINA, M.; SWINNEN, S.; RODRIGUEZ-PORRATA, B.; NEVOIGT, E.; ARIÑO, J. The cytosolic pH of individual *Saccharomyces cerevisiae* cells is a key factor in acetic acid tolerance. **Applied and Environmental Microbiology**, v.81, p. 7813-7821, 2015.

FERRAREZE, J. P.; PIOVEZAN, M.; CASTILHO, M. M.; VEEK, A. D. L.; GIRARDI, C. L. Physico-chemical and bioactive compounds characterization of apple Gala mutants harvested at two different time points. **Communications in Plant Sciences**, v. 7, p. 49-54. 2017.

FERREIRA-LIMA, N. E.; BURIN, V. M.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Characterization of Goethe white wines: influence of different storage conditions on the wine evolution during bottle aging. **European Food Research and Technology**. v. 237, p.509-520, 2013.

FRAGA, C. G. **Plant phenolics and human health: Biochemistry, nutrition, and pharmacology**. Hoboken: Wiley, 2010.

FRANCO, B. D.; GOMBOSSY, M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996, 182 p.

FROMM, M.; BAYHA, S.; CARLE, R.; KAMMERER, D. R. Characterization and quantitation of low and high molecular weight phenolic compounds in apple seeds. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 60, p. 1232 - 1242, 2012.

FURLANI, M. V. M.; MATURANO, Y. P.; COMBINA, M.; MERCADO, L. A.; TORO, M. E.; VAZQUEZ, F. Selection of non-*Saccharomyces* yeasts to be used in grape musts with high alcoholic potential: a strategy to obtain wines with reduced ethanol content. **Fems Yeast Research**, v. 17(2), 10p., 2017.

GEMBECKA, M. Natural sweeteners in a human diet. **Rocz Panstw Zakl Hig**, v. 66, p. 195-202, 2015.

GERALDI, M. V.; CAZARIN, C. B. B.; DIAS-AUDIBERT, F. L.; PEREIRA, G. A.; CARVALHO, G. G.; KABUKI, D. Y.; CATHARINO, R. R.; PASTORE, G. M.; BEHRENS, J. H.; CRISTIANINI, M. JÚNIOR, M. R. M. Influence of high isostatic pressure and thermal pasteurization on chemical composition, color, antioxidant properties and sensory evaluation of jabuticaba juice. **LWT - Food Science and Technology**, v. 139, 110548, 2021.

GIRSCHIK, L.; JONES, J. E.; KERSLAKE, F. L.; ROBERTSON, M.; DAMBERGS R. G.; SWARTS, N. D. Apple variety and maturity profiling of base ciders using UV spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 228, p. 323-329. 2017.

GONZÁLEZ-LÓPEZ, C.; MARTÍNEZ-PENICHE, R.; ITURRIAGA, M. H.; ARVIZU-MEDRANO, S. Attachment and colonization of *Salmonella* on 'Rayada', 'Golden Delicious', and 'Red Delicious' apples. **Journal of Science Food and Agriculture**, v.99, p.1166-1171, 2019.

GONZÁLEZ-MONROY, A. D.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, G.; OZUNA, C.; SOSA-MORALES, M. E. Microwave-assisted pasteurization of beverages (tamarind and green) and their quality during refrigerated storage. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. V. 49, p. 51-57, 2018.

GRAÇA, A.; SANTO, D.; ESTEVE, E.; NUNES, C.; ABADIAS, M.; QUINTAS, C. Evaluation of microbial quality and yeast diversity in fresh-cut apple. **Food Microbiology**, v. 51, p. 179 - 185, 2015.

GROBELNA, A.; KALISZ, S.; KIELISZEK, M. The Effect of the addition of blue honeysuckle berry juice to apple juice on the selected quality characteristics, anthocyanin stability, and antioxidant properties. **Biomolecules**, v. 9, 744 p., 2019.

GUINÉ, R. P. F; BARROCA, M. J.; COLDEA, T. E.; BARTKIENE, E.; ANJOS, O. Apple fermented products: an overview of technology, properties and health effects. **Processes**, v.9(2), p. 223, 2021.

GUO, S.; GUAN, L.; CAO, Y.; LI, C.; CHEN, J.; LI, J.; LIU, G.; LI, S.; WU, B. Diversity of

polyphenols in the peel of apple (*Malus* sp.) germplasm from different countries of origin. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 51, p. 222 - 230, 2015.

HAAS, I. C. S.; ESPINDOLA, J. S.; LIZ, G. R.; LUNA, A. S.; BORDIGNON-LUIZ, M. T.; PRUDÊNCIO, E. S.; GOIS, J. S.; FEDRIGO, I. M. T. Gravitational assisted three-stage block freeze concentration process for producing enriched concentrated orange juice (*Citrus sinensis* L.): Multi-elemental profiling and polyphenolic bioactives. **Journal of Food Engineering**, v. 315, 110802, 2022.

HASHEMI S. M. B.; GHOLAMHOSSEINPOUR, NIAKOUSARI, M. Application of microwave and ohmic heating for pasteurization of cantaloupe juice: microbial inactivation and chemical properties. **Journal of Science Food and Agriculture**. v. 99, p. 4276-4286, 2019.

HE, W.; LAAKSONEN, O.; TIAN, Y.; HEINONEN, M.; BITZ, L.; YANG, B. Phenolic compound profiles in finnish apple (*Malus × domestica* Borkh.) juices and ciders fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and *Schizosaccharomyces pombe* strains. **Food Chemistry**, v. 373, P. 131437, 2022.

HE, W.; LIU, S.; HEPONIEM, P.; HEINONEN, M.; MARSOL-VALL, A.; MA, X.; YANG, B.; LAAKSONEN, O. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Schizosaccharomyces pombe* strains on chemical composition and sensory quality of ciders made from Finnish apple cultivars. **Food Chemistry**, v. 345, p. 128 - 833, 2021.

HERNÁNDEZ, E.; RAVENTÓS, M.; AULEDA, J. M.; IBARZ, A. Concentration of apple and pear juices in a multi-plate freeze concentrator. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 10, p. 348-355, 2009.

HERRERA, C. M.; VEGA, C.; CANTO, A.; POZO, M. I. Yeasts in floral nectar: A quantitative survey. **Annals of Bontany**, v. 103, p. 1415 -1423, 2009.

HIRAI S, YOKOYAMA E, ETOH Y, SETO J, ICHIHARA S, SUZUKI Y, MAEDA E, SERA N, HORIKAWA K, YAMAMOTO T. Analysis of the population genetics of clades of enterohaemorrhagic *E. coli* O157: H7/H-isolated in three areas in Japan. **Journal of Applied Microbiology**, v. 117, p. 1191-1197, 2014.

HOWELL, A. B.; REED, J. D.; KRUEGER, C. G.; WINTERBOTTOM, R.; CUNNINGHAM, D. G.; LEAHY, M. A-type cranberry proanthocyanidins and uropathogenic bacterial anti-adhesion activity. **Phytochemistry**, v. 66, p. 2281 - 2291, 2005.

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Alimentos e Nutrição**. v. 19, p. 97-108, 2008.

HUVAERE, K.; SKIBSTED, L. H. Flavonoids protecting food and beverages against light. **Journal Science Food and Agriculture**, v. 95, p. 20 - 35, 2014.

IAL – Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**, 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1020 p. 2008.

IFPC - Institut Français des Productions Cidricoles. **Présentation des caractéristiques des principales variétés cidricoles**. Disponível em: <http://www.ifpc.eu/infos-techniques/verger->

et-materiel-vegetal/les-varietes-de- pommes-a-cidre.html Acesso em: 15 mar. 2021.

ISMAIL, K. S. K.; SAKAMOTO, T.; HASUNUMA, T.; ZHAO, X.; KONDO, A. Zinc, magnesium, and calcium ion supplementation confers tolerance to acetic acid stress in industrial *Saccharomyces cerevisiae* utilizing xylose. **Biotechnology Journal**, v.2, p.1519-1525, 2014.

ISMAIL, S. I.; BATZER, J. C.; HARRINGTON, T. C; CROUS, P. W.; LAVROV, D. V.; LI, H.; GLEASON, M. L. Ancestral state reconstruction infers phytopathogenic origins of sooty blotch and flyspeck fungi on apple. **Mycologia**, [s. l.], v. 108, p. 292 - 302, 2016.

IVIT, N. N.; LONGO, R.; KEMP, B. The Effect of Non-Saccharomyces and Saccharomyces Non-Cerevisiae Yeasts on Ethanol and Glycerol Levels in Wine. **Fermentation**, v. 6(3), p. 77, 2020.

JACKSON, R. S. **Wine Science: Principles and Applications**. San Diego: Academic Press, 2000.

JACQUES, A. C.; ZAMBIAZI, R. C.; GANDRA, E. A.; KRUMREICH, F.; LUZ, S. R.; MACHADO, M. R. G. Sanitização com produto à Base de Cloro e com Ozônio: Efeito Sobre Compostos Bioativos de Amora-preta (*Rubus fruticosus*) cv. Tupy. **Revista Ceres**, v. 62, p.507-515, 2015.

JANES, M. E.; COBBS, T.; KOOSHESH, T.; JOHNSON, M. G. Survival differences of *Escherichia coli* O157: H7 strains in apples of three varieties stored at various temperatures. **Journal Food Protection**, v. 65, ed. 7, p. 1075 - 1080, 2002.

JANG J, HUR HG, SADOWSKY MJ, BYAPPANAHALLI MN, YAN T, ISHII S. Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications - a review. **Journal of applied microbiology**, v. 123, p. 570-581. 2017.

JANZANTTI, 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**, v. 23, n. 3, p. 523-528, 2003.

JAROS, D.; THAMKE. I.; RADDATZ, H.; ROHM, H. Single-cultivar cloudy juice made from table apples: an attempt to identify the driving force for sensory preference. **European Food Research and Technology**. v. 229, p. 51-61. 2009

JARVIS, B. Cider (Cyder; Hard Cider). In: **Encyclopedia of food microbiology**, [S.L.], p. 437-443, 2014. Elsevier.

JENSEN E. N.; BUCH-ANDERSEN, T.; RAVN-HAREN, G.; DRAGSTED, L. O. Mini-review: The effects of apples on plasma cholesterol levels and cardiovascular risk – a review of the evidence. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 84, p. 34–41, 2009.

JOHNSTON, K. L.; CLIFFORD, M. N.; MORGAN, L. M. Possible role for apple juice phenolic compounds in the acute modification of glucose tolerance and gastrointestinal hormone secretion in humans. **Journal Science Food Agriculture**, v. 82, p. 1800 - 1805, 2002.

JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA. Regulamento (CE) N.O 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho: relativo aos aditivos alimentares, 2008. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/ALL/?uri=celex%3A32011R1129>. Acesso em: 12 jun. 2022.

JOSHI, V. K.; ATTRI, B. L. Specific features of table wine production technology: Pome fruit wines: production technology. In: KOSSEVA, M. R.; JOSHI, V. K.; PANESAR, P. S. (ed.). **Science and technology of fruit wine production**. [S.I]: Academic Press, 2017. p. 295-347.

KANG J-W, KIM W-J, KANG D-H. Synergistic effect of 222-nm krypton-chlorine excilamp and mild heating combined treatment on inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella* Typhimurium in apple juice. **International Journal of Food Microbiology**, v. 329, p. 108665, 2020.

KELKAR, S.; DOSLAN, K. Modeling the effects of initial nitrogen content and temperature on fermentation kinetics of hard cider. **Journal of Food Engineering**, v. 109(3), p. 588-596, 2012.

KHAJEHEI, F.; NIAKOUSARI, M.; ESKANDARI, M. H.; SARSHAR, M.; Production of pomegranate juice concentrate by complete block cryoconcentration process. **Food Process Engineering**, v. 38, p. 488-498, 2015.

KLIKS, J.; KAWA-RYGIELSKA, J.; GASIŃSKI, A.; GŁOWACKI, A.; SZUMNY, A. Analysis of volatile compounds and sugar content in three polish regional ciders with pear addition. **Molecules**, v. 25, p. 3564, 2020..

KWAW, E.; MA, Y.; TCHABO, W.; APALIYA, M. T.; WU, M.; SACKEY, A. S.; XIAO, L.; TAHIR, H. E. Effect of lactobacillus strains on phenolic profile, color attributes and antioxidant activities of lactic-acid-fermented mulberry juice. **Food Chemistry**, v. 250, p.148-154. 2018.

LACHOWICZ, S.; OSZMIAŃSKI, J.; UŹDZICKA, M.; CHMIELEWSKA, J. The Influence of Yeast Strain, β -Cyclodextrin, and Storage Time on Concentrations of Phytochemical Components, Sensory Attributes, and Antioxidative Activity of Novel Red Apple Ciders. **Molecules**, v.24(13), p. 2477, 2019.

LACHOWICZ, S.; WOJDYŁO, A.; CHMIELEWSKA, J.; OSZMIAŃSKI. The influence of yeast type and storage temperature on content of phenolic compounds, antioxidant activity, colour and sensory attributes of chokeberry wine. **European Food Research Technology**. v. 243, p. 2199-2209, 2017.

LAIRÓN-PERIS, M.; ROUTLEDGE, S.J.; LINNEY, J. A.; ALONSO-DEL-REAL, J.; SPICKETT, C. M.; PITT, A. R.; GUILLAMÓN, J. M.; BARRIO, E.; GODDARD, A. D.; QUEROL, A. Lipid composition analysis reveals mechanisms of ethanol tolerance in the model yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied Environmental Microbiology**, v. 87(12), e00440, 2021.

LAN, Y.; WU, J.; WANG, X.; SUN, X.; HACKMAN, R. M.; LI, Z.; FENG, X. Evaluation of antioxidant capacity and flavor profile change of pomegranate wine during fermentation and aging process. **Food Chemistry**. v. 232, p.777-787, 2017.

LANG, G. H.; LINDEMANN, I. S., FERREIRA, C. D.; HOFFMANN, J. F.; VANIER, N. L.; OLIVEIRA, M. Effects of drying temperature and long-term storage conditions on black rice phenolic compounds. **Food Chemistry**, v. 287, p. 197–204, 2019.

LE DEUN, E; VAN DER WERF, R.; LE BAIL, G.; LE QUÉRÉ, J.-M.; GUYOT, S. HPLC-DAD-MS profiling of polyphenols responsible for the yellow: orange color in apple juices of different french cider apple varieties. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 63, p. 7675 - 7684, 2015.

LEA, A.G.H.; DRILLEAU, J. F. Cidermaking. In: LEA, A.G.H.; PIGGOTT, J. **Fermented beverage production**. 2. ed. [S. l.]: Blackie Academic, 2003. cap. 4, p. 66 - 96.

LEE, B.; SEO, J. D.; RHEE, J. K.; KIM, C. Y. **Heated apple juice supplemented with onion has greatly improved nutritional quality of and browning index**. 2013.

LEE, H.; KIM, H.; CADWALLADER, K. R.; FENG, H.; MARTIN, S. E. Sonication in combination with heat and low pressure as an alternative pasteurization treatment – Effect on Escherichia coli K12 inactivation and quality of apple cider. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.20, p.1131-1138, 2013.

LEITE, P. B.; MIRANDA, A. L.; SOUZA, C. Oliveira; MACHADO, W. Mariano; MOURA, L. E.; DRUZIAN, J. I. Estudo prospectivo sobre métodos de conservação de bebidas alcoólicas e tecnologias correlatas sob o enfoque em documentos de patentes. **Cadernos de Prospecção**, v. 8, p. 74 - 84, 2015.

LI, W.; ZHAO, Y.; LIU, C.; LI, S.; YUE, T.; YUAN, Y. Effects of secondary fermentation of four in-bottle *Saccharomyces cerevisiae* strains on sparkling cider sensory quality. **Food Bioscience**, v. 48, 101731, 2022.

LI, Y.; NGUYEN, T. T. H.; JIN, J.; LIM, J.; LEE, J.; PIAO, M.; MOK, I. K.; KIM, D. Brewing of glucuronic acid-enriched apple cider with enhanced antioxidant activities through the co-fermentation of yeast (*Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia kudriavzevii*) and bacteria (*Lactobacillus plantarum*). **Food Science Biotechnology**, v. 30, p. 555-564, 2021.

LIN, Q.; HUA, X.; GONG, F.; CAI, L.; LIU, J.; SHA, L. Comparison of electrochemical sensing platform and traditional methods for the evaluation of antioxidant capacity of apple cider. **International Journal of Electrochemistry and Science**, v. 17, 220325, 2022.

LIU L, ZHANG C, ZHANG H, QU G, LI C, LIU L. Biotransformation of polyphenols in apple pomace fermented by β -glucosidase-producing *Lactobacillus rhamnosus* L08. **Foods**, v. 10, p. 1343, 2021.

LIU, X.; CHEN, D.; YANG, Z.; CHEN, F.; HU, X.; XIAO, Z.; JI, J.; MA. Non-enzymatic browning induced by chlorogenic acid quinone mediated catechin oxidation. **Food Research International**. v.156. p.111297. 2022.

LIU, X.; LE BOURVELLEC, C.; GUYOT, S.; RENARD, C. M. C. Reactivity of flavanols: Their fate in physical food processing and recent advances in their analysis by depolymerization. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 1, p. 1-40, 2021.

LORDAN, J.; ALINS, G.; ÀVILA, G.; TORRES, E.; CARBÓ, J.; BONANY, J.; ALEGRE,

- S. Screening of eco-friendly thinning agents and adjusting mechanical thinning on 'Gala', 'Golden Delicious' and 'Fuji' apple trees. **Scientia Horticulturae**, v. 239, p. 141-155. 2018.
- LOS, P. R.; BRAGA, C. M.; CARVALHO, J. R. F.; SIMÕES, D. R. S.; NOGUEIRA, A. Application of sensory analyses in the development of a new apple cider. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 10, p. 2150-2168, 2017.
- LU, Y.; CHAN, L. J.; LI, X.; LIU, S. Q. Effects of sugar concentration on mango wine composition fermented by *Saccharomyces cerevisiae* MERIT.ferm. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 53 (1), p. 199-208, 2017.
- MA, L.; WATERHOUSE, A. L. Flavanols react preferentially with quinones through an electron transfer reaction, stimulating rather than preventing wine browning. **Analytica Chimica Acta**. v.1039. p.167-171. 2018.
- MACIEIRA, A.; BARBOSA, J.; TEIXEIRA, P. Food safety in local farming of fruits and vegetables. **International Journal of Environment Research and Public Health**, v.18(18), p.9733, 2021.
- MANZEL, A.; MULLER, D. N.; HAFLER D. A.; ERDMAN, S.E.; LINKER2012., R A.; KLEINWIEFELD, M. Role of "western diet" in inflammatory autoimmune diseases. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 404, p.1-8, 2014.
- MARAGÒ, E.; IACOPINI, P.; CAMANGI, F.; SCATTINO, C.; RANIERI, A.; STEFANI, A.; SEBASTIAANI, L. Phenolic profile and antioxidant activity in apple juice and pomace: effects of different storage conditions. **Fruits**, v, 70, p. 213-223, 2015.
- MARKET DATA FORECAST. Cider market by product (apple wine, still, sparkling), by source (perry, fruit flavored, apple, others), and region (North America, Europe, Asia Pacific, Latin America, Middle East and Africa, and Rest of the World) - industry size, share, trends, growth, value, demand, revenue, and sales analysis report 2022 to 2027. 2022. Disponível em: <https://www.marketdataforecast.com/market-reports/cider-market>. Acesso em: 27 set. 2022.
- MARKS, S. C.; MULLEN, W.; CROZIER, A. Flavonoid and hydroxycinnamate profiles of english apple ciders. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 55, p. 8723 - 8730, 2007.
- MARQUES, W. L.; RAGHAVENDRAN, V.; STAMBUK, B. U.; GOMBERT, A. K. Sucrose and *Saccharomyces cerevisiae*: a relationship most Sweet. **FEMS Yeast Research**. v. 16(1), p. 1-15, 2016.
- MARTÍN-BELOSÓ, O.; SOBRINO-LÓPES, A. Combination of pulsed electric fields with other preservation techniques. **Food Bioprocess Technology**, v.4, p.954-968. 2011.
- MARZEL, A.; DESAI, P. T.; GOREN, A.; SCHORR, YI.; NISSAN, I.; PORWOLLIK, S.; VALINSKY, L.; MCCLELLAND, M.; RAHAV, G.; GAL-MOR, O. Persistent infections by nontyphoidal *Salmonella* in humans: epidemiology and genetics. **Clinical Infectious Diseases**, v. 62, p. 879-886, 2016.
- MEDINA I.; GALLARDO, J. M.; GONZÁLEZ, M. J.; LOIS, S.; HEDGES, N. Effect of molecular structure of phenolic families as hydroxycinnamic acids and catechins on their antioxidant effectiveness in minced fish muscle. **Journal of Agricultural and Food**

Chemistry, v. 55, p. 3889 – 3895, 2007.

Merwin, I. A, Valois S, Padilla-Zakour O, I. Cider apples and cider-making techniques in Europe and North America. **Horticultural Reviews**, p.365-415, 2008.

MILLET, M.; POUPARD, P.; GUILOIS-DUBOIS, S.; ZANCHI, D.; GUYOT, S. Self-aggregation of oxidized procyanidins contributes to the formation of heat-reversible haze in apple-based liqueur wine. **Food Chemistry**, v. 276, p.797-805, 2019.

Mudgil, D.; Barak S. 2018. **Beverages: processing & technology**, p. 302. Joghpur: Scientific Publishers.

Müller, W. A.; Pasin, M. V. A.; Sarkis, J. R.; Marczak, LDF. Effect of pasteurization on *Aspergillus fumigatus* in apple juice: Analysis of the thermal and electric effects. **International Journal of Food Microbiology**, v. 338, 108993, 2021.

MURTAZA, A.; IQBAL, A.; MARSZALEK, K.; IQBAL, M. A.; ALI, S. W.; XU, X., PAN, S.; HU, W. Enzymatic, phyto-, and physicochemical evaluation of apple juice under high-pressure carbon dioxide and thermal processing. **Foods**, v.9(2), p.243, 2020.

NADAI, C.; LEMOS, W. J. F.; FAVARON, F.; GIACOMINI, A.; CORICH, V. Biocontrol activity of *Starmerella bacillaris* yeast against blue mold disease on apple fruit and its effect on cider fermentation. **PloS one**, v.13: e0204350, 2018.

NAPOLITANO, A.; CASCONI, A.; GRAZIANI, G.; FERRACANE, R.; SCALFI, L.; DI VAIO, C.; RITIENI, A.; FOGLIANO, V. Influence of variety and storage on the polyphenol composition of apple flesh. **Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 6526-6531, 2004.

NASROLLAHZADEH, A.; MOKHTARI, S.; KHOMEIRI, M.; SARIS, P. E. J. Antifungal preservation of food by lactic acid bacteria. **Foods**, v. 11(3), p. 985, 2022.

NELSON, J. A.; FALK, R. E. The efficacy of phloridzin and phloretin on tumor cell growth. **Anticancer Research**, p. 2287 - 2292, 1993.

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 Review of Food Science**, v. 34, p. 109–157, 1994.

NICOLINI, G.; ROMÁN, T.; CARLIN, S.; MALACARNE, M.; NARDIN, T.; BERTOLDI, D.; LARCHER, R. Characterisation of single-variety still ciders produced with dessert apples in the Italian Alps. **Journal of the Institute of Brewing**, v.124, p.457-466, 2018.

NOGUEIRA, A.; LE QUÉRE, J. M.; GESTIN, P.; MICHEL, A.; WOSIACK, G.; DRILLEAU, J. F. Slow fermentation in french cider processing due to partial biomass reduction. **Journal of the Institute of Brewing**, v.114(2), p.102-110, 2008.

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**, v. 24, p. 289 - 298, 2003.

NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Sidra. In: **Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. São Paulo: Edgar Blücher Ltda. v. 1, p. 183 – 212, 2016.

OLGUÍN, N.; CHAMPOMIER-VERGÈS, M.; ANGLADE, P.; BARAIGE, F.; CORDERO-OTERO, R.; BORDONS, A.; ZAGOREC, M.; REGUANT, C. Transcriptomic and proteomic analysis of *Oenococcus oeni* PSU-1 response to ethanol shock. **Food Microbiol**, v. 51, p.87–95, 2015.

OPAS, Organização Pan-Americana da Saúde. **Tecnologias de conservação aplicadas à segurança de alimentos**. Washington, D.C: OPAS, 2019. ISBN 978-92-75-72103-2.

ORELLANA-PALMA, P.; LAZO-MERCADO, V.; GIANELLI, M. P.; HERNÁNDEZ, E.; ZÚÑIGA, R. N.; PETZOLD, G. Influence of cryoconcentration on quality attributes of apple juice (*Malus Domestica* cv. Red Fuji). **Applied Sciences**, v. 10, 959, 2020

ORELLANA-PALMA, P.; ZÚÑIGA, R. N.; TAKHAR, P. S.; GIANELLI, M. P.; PETZOLD, G. Effects of centrifugal block freeze crystallization on quality properties in pineapple juice. **Chemical Engineering Technology**, v. 43, p. 355-364. 2020.

ORIJ, R.; BRUL, S.; SMITS, G. J. Intracellular pH is a tightly controlled signal in yeast. **Biochimica et Biophysica Acta (Bba)**, v.1810, p. 933-944, 2011.

ORTEGA, A. F.; MAYEN, M.; MEDINA, M. Study of colour and phenolic compounds in two models of oxidative ageing for sherry type white wines. **Food Control**, v.19(10), p.949-956, 2008.

OSTROM, M. R.; CONNER, D. S.; TAMBET, H.; SMITH, K. S.; SIRRINEE, J. S.; HOWARD, P. H.; MILLER, M. Apple grower research and extension needs for craft cider **HortTechnology**. v. 32 (2). p.147-157. 2022.

PALMA, M.; GUERREIRO, J. F.; SÁ-CORREIA. Adaptive response and tolerance to acetic acid in *Saccharomyces cerevisiae* and *Zygosaccharomyces bailii*: A physiological genomics perspective. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 274, 2018.

PANESAR, P. S.; JOSHI, V. K.; BALI, V.; PANESAR, R. Technology for production of fortified and sparkling fruit wines. **Science and Technology of Fruit Wine Production**, p. 487-530, 2017.

PARDO, G.; ZUFÍA, J. Life cycle assessment of food-preservation technologies. **Journal of Cleaner Production**, v. 28, p. 198-207, 2012.

PIETTA, P. G. Flavonoids as Antioxidants. **American Chemical Society (ACS)**, v. 63, p. 1035 - 1042, 2002.

PIÑEROS-NIÑO, C.; NARVÁEZ-CUENCA, C. E.; KUSHALAPPA, A. C.; MOSQUERA, T. Hydroxycinnamic acids in cooked potato tubers from *Solanum tuberosum* group Phureja. **Food Science Nutrition**, v. 5, p. 380 - 389, 2016.

PITTARI, E.; MOIO, L.; PIOMBINO, P. Interactions between polyphenols and volatile compounds in wine: a literature review on physicochemical and sensory insights. **Applied Science**. v.11, p. 1157. 2021.

PIYASENA, P.; MCKELLAR, R.C.; BARTLETT, F.M. Thermal inactivation of *Pediococcus* sp. in simulated apple cider during high-temperature short-time pasteurization. **International Journal of Food Microbiology**, v. 82, ed. 1, p. 25 - 31, 2003.

PRICE, K. R.; PROSSER, T.; RICHTIN, A. M. F.; RHODES, M. J. C. A comparison of the flavonol content and composition in dessert, cooking and cider-making apples; diction within the fruit and effect of juicing. **Food Chemistry**, v. 66, p. 489-494, 1999.

Rabie, M. A.; Soliman, A. Z.; Diaconeasa, Z. S.; Constantin, B. Effect of pasteurization and shelf life on the physicochemical properties of physalis (*Physalis peruviana* L.) juice. **Journal Food Processing and Preservation**. v.39, p.1051-1060, 2014.

RAMOS-AGUILAR, A. L.; VICTORIA-CAMPOS, C. I.; OCHOA-REYES, E.; ORNELAS-PAZ, J. J.; ZAMUDIO-FLORES, P. B.; RIOS-VELASCO, C.; REYES-HERNÁNDEZ, J.; PÉREZ-MATÍNEZ, J. D.; IBARRA-JUNQUERA, V. Physicochemical properties of apple juice during sequential steps of the industrial processing and functional properties of pectin fractions from the generated pomace. **LWT**, v, 86, p. 465-472, 2017.

RANGANATHAN, A.; PARADISE, G. A.; HANSEN, C. A.; MCCOY, M. R.; GEE, S. J.; ZHONG, P.; CHANG, D.; HAMMOCK, B. D. Indirect homologous competitive enzyme linked immunosorbent assay for the detection of a class of glycosylated dihydrochalcones. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 61, p. 6964 - 6970, 2013.

RAWSON, A.; PATRAS, A.; TIWARI, B. K., NOCI F, KOUTCHMA T, BRUNTON N. Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. **Food Research International**, v. 44, p.1875–1887. 2011.

RE, R.; PELLEGRIN, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 1231 - 1237, 1999

REIG, G.; LORDAN, J.; SAZO, M. M.; HOYING, S.; FARGIONE, M.; REGINATO, G.; DONAHUED, D. J.; FRANCESCOTTO, P.; FAZIO, G.; ROBINSON, T. Long-term performance of Gala, Fuji and Honeycrisp apple trees grafted on Geneva® rootstocks and trained to four production systems under New York State climatic conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 244, p. 277-293. 2019.

REINEHR, J.; CANOSSA, A. T.; FURINI, G.; OUTEMANE, M.; WURZ, D. A.; RUFATO, L. Efeito da acidificação na composição química e análise sensorial de sidra elaborada através do método champenoise. **Revista da Jornada da Pós-Graduação e Pesquisa - Congrega**, [s. l.], 2017.

RENARD, C. M. G. C.; BARON, A.; GUYOT, S.; DRILLEAU, J. F. Interactions between apple cell walls and native apple polyphenols: quantification and some consequences. **International Journal of Biology Macromolecules**, v. 29, p. 115–125, 2001.

RIOS-CORRIPIO, G.; WELTI-CHANES, J.; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, V.; GUERRERO-BELTRÁN, J. Influence of high hydrostatic pressure processing on physicochemical characteristics of a fermented pomegranate (*Punica granatum* L.) beverage. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 59, 102249, 2020.

ROMAN, I.; VAC, C. S.; ROMAN, R. A. Assessment of physicochemical properties of autumn and winter apple varieties and their pretability for juice extraction. **Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus**, v.19(2), p.35-48, 2020.

SAHIDI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidante activity. **Journal of Functional Foods**. v.18, p.757-781, 2015.

SALAZAR-GONZÁLEZ, C.; SAN MARTÍN-GONZÁLEZ, M. F.; VERGARA-BALDERAS F. T.; LÓPEZ-MALO, A.; SOSA-MORALES, M. E. Physical-chemical and microbiological stability during refrigerated storage of microwave-pasteurized guava néctar. **Focusing on Modern Food Industry**. v.3, 43-51, 2014.

SALTMARSH M. **Essential guide to food aditives**, Cambridge: RSC Publishing, 2013.

SÁNCHEZ, A.; RODRÍGUEZ, R.; COTON, M.; COTON, E.; HERRERO, M.; GARCÍA, L. A.; DIAZ, M. Population dynamics of lactic acid bacteria during spontaneous malolactic fermentation in industrial cider. **Food Research International**, v. 43, p. 2101-2107, 2010.

SANTOS, C. M. Eleutério D; 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 aminoacid profile and yeast strains in the formation of fusel alcohols and esters in cider production. **Journal Food Science**, v. 80, p. 1170 - 1177, 2015.

SANTOS, T. P. M.; ALBERTI, A.; JUDACEWSKI, P.; ZIELINSKI, A. A. F.; NOGUEIRA, A. Effect of sulphur dioxide concentration added at different processing stages on volatile composition of ciders. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 124, ed. 3, p. 261 - 268, 2018.

SANTOS-SÁNCHEZ, N. F.; SALAS-CORONADO, R.; VILLANUEVA-CAÑONGO, C.; HERNÁNDEZ-CARLOS, B. Antioxidant compounds and their antioxidante mechanism. In: SHALABY, E. **Antioxidants**. Londres: InTechOpen, 2019.

SARANRAJ, P.; SIVASAKTHIVELAN, P.; NAVEEN, M. Fermentation of fruit wine and its quality analysis: A review. **Australian Journal of Science and Technology**. v. 1, p.85-97, 2017.

SATORA, P.; SEMIK-ZCZURAK, D.; TARKO, T.; BUŁDYS, A. Influence of selected saccharomyces and schizosaccharomyces strains and their mixed cultures on chemical composition of apple wines. **Journal of Food Science**, v. 83, p. 424-431, 2018).

SETTIER-RAMÍREZ, L.; LÓPEZ-CARBALLO, G.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; FONTANA. S. C.; SCHORR-GALINDO, S. New isolated Metschnikowia pulcherrima strains from apples for postharvest biocontrol of Penicillium expansum and patulin accumulation. **Toxins**, v. 13 p. 397. 2021.

SHANG, L.; GUO, W.; NELSON, S. O. Apple variety identification based on dielectric spectra and chemometric methods. **Food Anal Methods**, v. 8, p. 1042–1052. 2015.

SIGUEMOTO, E.S.; GUT, J. A. W.; MARTINEZ A, RODRIGO D. Inactivation kinetics of Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes in apple juice by microwave and conventional thermal processing. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. v. 45, p. 84-91, 2018.

SILVA, K. M.; ZIELINSKI, A. A. F.; BENVENUTTI, L.; BORTOLINI, D. G.; ZARDO, D. M.; BELTRAME, F. L.; NOGUEIRA, AL. ALBERTI, A. Effect of fruit ripening on bioactive compounds and antioxidant capacity of apple beverages. **Food Science and Technology**, v. 39, p. 294-300, 2019.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. São Paulo: Varela, 4 ed. 2010, 632 p.

SIMÕES, D. R. S.; WASZCZYNSKYJ, N.; WOSIACKI, G. Aromas em maçãs, suco e sidra: Revisão. **Bol. CEPPA**, [s. l.], v. 27, p. 153 - 172, 2009.

SINGH, S. Cider Market by Product (Apple Flavored, Fruit Flavored, and Perry), Distribution Channel (On-trade and Off-trade), and Packaging (Draught, Cans, Glass Bottles, Plastic Bottles, and Others) - Global Opportunity Analysis and Industry Forecast, 2017-2023, Allied Market Research, [S.I.], 230p., 2018.

SOUTO, L. I. D. A.; SILVA, J. F.; FIGUEIRÊDO, R. A. R. D.; ONE, G. M. D. C. Estabilizantes Alimentares: Efeitos Desejáveis Nos Alimentos. In: ONE, G. M. D. C.; ALBUQUERQUE, H. N. D. **Simpósio paraibano em saúde: tecnologia, saúde e meio ambiente à serviço da saúde**, Paraíba. Anais João Pessoa: Impressos Adilson. p. 217, 2012.

SPLITTSTOESSER, D. F.; MCLELLAN, M. R.; CHUREY, J. J. Heat resistance of *Escherichia coli* O157: h7 in apple juice. **Journal of Food Protection**, v. 59, p. 226-229, 1996.

SRIDHAR, A.; PONNUCHAMY, M.; KUMAR, P. S.; KAPOOR, A. Food preservation techniques and nanotechnology for increased shelf life of fruits, vegetables, beverages and spices: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 19, p. 1715-1735, 2021.

STANDER, J. H.; MULLER, M.; JOUBERT, E.; LABUSCHAGNÉ, I. F.; DE BEER, D. Potential of low-chill requiring and pink-fleshed apple cultivars for cloudy juice production. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 103, 104089, 2021.

STAROWICZ, M.; ACHREM-ACHREMOWICZ, B.; PISKUŁA, M. K.; ZIELIŃSKI, H. Phenolic Compounds from Apples: Reviewing their Occurrence, Absorption, Bioavailability, Processing, and Antioxidant Activity – a Review. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 70(4), p.321-336, 2020.

STRATFORD, M.; NEBE-VON-CARON, G.; STEELS, H.; NOVODVORSKA, M.; UECKERT, J.; ARCHER, D. B. Weak-acid preservatives: pH and proton movements in the yeast *saccharomyces cerevisiae*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 161, p.164-171, 2013.

SUÁREZ-JACOBO, A.; RÜFER, C. E.; GERVILLA, R.; GUAMIS, B.; ROIG-SAGUÉS, A. X.; SALDO, J. Influence of ultra-high pressure homogenisation on antioxidant capacity, polyphenol and vitamin content of clear apple juice. **Food Chemistry**, v. 127, p. 447-454, 2011.

SUÁREZ-JACOBO, U.; GERVILLA, R.; GUAMIS, B.; ROIG-SAGUÉS, A. X.; SALDO, J. Effect of UHPH on indigenous microbiota of apple juice: A preliminar study of microbial shelf-life. **International Journal of Food Microbiology**, v. 136, p. 261-267, 2010.

SULAIMAN, A.; FARID, M.; SILVA, F. V. M. Quality stability and sensory attributes of apple juice processed by thermosonication, pulsed electric field and thermal processing. **Food Science and Technology International**, v. 23, p. 265-276, 2016.

- SUN, B.; WANG, J. Food additives, In: JEN, J. J.; CHEN, J. **Food safety in China: science, technology, management and regulation**. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd., 2017 p. 186-200.
- SUN, X.; JIAO, C.; SCHWANINGER, H.; CHAO, C.T.; MA, Y.; DUAN, N.; KHAN, A.; BAN, S.; XU, K.; CHENG, L.; ZHONG, G. -Y; FEI, Z. Phased diploid genome assemblies and pan-genomes provide insights into the genetic history of apple domestication. **Nature genetics**, v. 52: p. 1423-1432. 2020.
- SYMONEAUX, R.; BARON, A.; MARNET, N.; BAUDUIN, R.; CHOLLET, S. Impact of apple procyanidins on sensory perception in model cider (part 1): Polymerisation degree and concentration. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, p. 22-27, 2014a.
- SYMONEAUX, R.; CHOLLET, 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. **LWT - Food Science and Technology**, v.57, p. 28-34, 2014b.
- TANGÜLER, H.; ERTEN, H. The influence of two yeast strains on fermentation and flavour composition of cider. **Flavor and Fragrance journal**, v.37, p.144-153, 2022.
- TARKO, T.; JANUSZEK, M.; PATER, A.; SROKA, P.; DUDA-CHODAK, A. The quality of ciders depends on the must supplementation with mineral salts. **Molecules**, v. 25, 3640, 2020.
- TAŠEV, K.; STEFOVA, M.; IVANOVA-PETROPULOS, V. HPLC method validation and application for organic acid analysis in wine after solid-phase extraction. **Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering**. v.35(2), p.225-235, 2016.
- TECHAKANON, C.; SIRIMUANGMOON, C. The effect of pasteurization and shelf life on the physicochemical, microbiological, antioxidant, and sensory properties of rose apple cider during cold storage. **Beverages**. v.6(3), p. 43, 2020.
- TECHAKANON, C.; VENKATACHALAM, K. The effects of pasteurization conditions and storage time on microbial safety, quality and antioxidant properties of cider from rose apple (*Syzygium agueum* Alston cv. Taaptimjan). **Chiang Mai University Journal of Natural Sciences**, v. 20, p.2021034. 2021.
- TEMBO, D. T.; HOLMES, M. J.; MARSHALL, L. J. Effect of thermal treatment and storage on bioactive compounds, organic acids and antioxidant activity of baobab fruit (*Adansonia digitata*) pulp from Malawi. **Journal of Food Composition Analysis**, v. 58, p. 40-21, 2017.
- TORTOI, M.; BORBA, D. Ultraviolet light efficacy for microbial inactivation on fruit juices, nectars and apple cider. **Journal Agroalimentary Processes and Technology**, v. 19, p.130-140. 2013.
- TSAO R.; YANG, R.; YOUNG, J. C.; ZHU H, Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC). **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v.51, p. 6347–6353, 2003.
- VALLIERE, B.; HARKINS, S. A Preliminary evaluation to establish bath pasteurization guidelines for hard cider. **Beverages**, v. 6, 24 p., 2020.

VAN DER SLUIS, A. A.; DEKKER M.; SKREDE, G.; JONGEN, W. M. F. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple juice. 1. effect of existing production methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 7211-7219, 2002.

VAN DER SLUIS, A. A.; DEKKER, M.; VAN BOEKEL, M. A. J. S, Activity and Concentration of Polyphenolic Antioxidants in Apple Juice. 3. Stability during Storage. **Journal of Agricultural And Food Chemistrv**. v.53(4), p.1073-1080, 2005.

VARZAKAS, T. Advances in food aditives and contaminants, In: VARZAKAS T, TZIA C. **Handbook of food processing: food preservation**. Boca Raton: CRC Press, 2016, p. 309-388

VASANTHA RUPASINGHE, H. P.; JOSHI, V. K.; SMITH, A.; PARMAR, I. Chemistry of fruit wines. In: KOSSEVA, M. R.; JOSHI, V. K.; PANESAR, P. S. **Science and technology of fruit wine production**. [S.I]: Academic Press, 2017. p. 105-176.

VENKATACHALAM, K.; TACHAKANON, C.; THITITHANAKUL, S. Impact of the ripening stage of wax apples on chemical profiles of juice and cider. **Acs Omega**, v.3(6). p.6710-6718. 2018.

VERDU, C.F.; CHILDEBRAND, N.; MARNET, N., LEBAIL, G.; DUPUIS, F.; LAURENS, F.; GUILLET, D.; GUYOT, S. Polyphenol variability in the fruits and juices of a cider apple progeny. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 94: p. 1305-1314, 2014.

VILLAR, A.; VADILLO, J.; SANTOS, J.I.; GORRITXATEGI, E.; MABE, J.; ARNAIZ, A.; FERNÁNDEZ, L. A. Cider fermentation process monitoring by Vis-NIR sensor system and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 221, p. 100-106, 2017.

VILLIÈRE, A.; ARVISENET, G.; BAUDIN, R.; LE QUÉRE, J. M.; SÉROT, T. Influence of cider-making process parameters on the odourant volatile composition of hard ciders. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 121, p.95-105, 2015.

VISUTHIWAN, S.; ASSATARAKUL, K. Kinetic modeling of microbial degradation and antioxidant reduction in lychee juice subjected to UV radiation and shelf life during cold storage. **Food Control**, v.123, p.107770, 2021.

VRIESEKOOP, F.; KRAHL, M.; HUCKER, B.; MENZ, G. 125th Anniversary Review: Bacteria in brewing: The good, the bad and the ugly. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 118, p. 3335-345, 2012.

WATSON, B. **Cider, hard and sweet: history, traditions, and making your own**. Woodstock: [s. n.], 2013. ISBN 978-1-58157-689-4.

WEI, J.; ZHANG, Y.; YUAN, Y.; DAI, L.; YUE, T. Characteristic fruit wine production via reciprocal selection of juice and non-Saccharomyces species. **Food Microbiology**. v.79, p.66-74, 2019.

WIBOWO, S.; ESSEL, E. A.; DE MAN, S.; BERNAERT, N.; VAN DROOGENBROECK, B.; GRAWET, T.; VAN LOEY, A.; HENDRICKX, M. Comparing the impact of high pressure, pulsed electric field and thermal pasteurization on quality attributes of cloudy apple juice using targeted and untargeted analyses. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 54, p. 64-77, 2019.

WIBOWO, S.; GRAUWET, T.; SANTIAGO, J. S.; TOMIC, J.; VERVOORT, L.; HENDRICKX, M.; VAN LOEY, A. Quality changes of pasteurized orange juice during storage: A kinetic study of specific parameters and their relation to colour instability. **Food Chemistry**, v. 187, p. 140-151, 2015.

WICKLUND, T.; SKOTTHEIM, E. R.; REMBERG, S. F. Various factors affect product properties in apple cider production. **International Journal of Food Studies**, v. 9, p. 184-196, 2020.

WILCZYŃSKI, K.; KOBUS, Z.; DZIKI, D. Effect of press construction on yield and quality of apple juice. **Sustainability**, v. 11, p. 3630, 2019.

WU, C.; LI, T.; QI, J.; JIANG, T.; XU, H.; LEI, H. Effects of lactic acid fermentation-based biotransformation on phenolic profiles, antioxidant capacity and flavor volatiles of apple juice. **LWT - Food Science and Technology**, v. 122, 109064, 2020.

YALÇINÇIRAY, Ö.; VURAL, N.; ANLI, R. E. Effects of filtration and pasteurization process on bioactive phenolic compounds of beer. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 46, e16234, 2021.

YANG, H.; TIAN, T.; GU, H.; LI, X.; CAI, G.; SUN, J.; WU, D.; LU, J. Analysis of factors related to browning of Dangshan pear (*Pyrus* spp.) wine. **Food Chemistry**, v. 308, 125665, 2020.

YE, M.; YUE, T.; YUAN, Y. Effects of sequential mixed cultures of *Wickerhamomyces anomalus* and *Saccharomyces cerevisiae* on apple cider fermentation. **FEMS Yeast Research**, v. 14, p. 873-882, 2014.

YI, J.; KEBEDE, B. T.; DANG, D. N. H.; BUVÉ, C.; GRAUWET, T.; VAN LOEY, A.; HU, X.; HENDRICKX, M. Quality change during high pressure processing and thermal processing of cloudy apple juice. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 85-92, 2017.

YUK, H.; GEVEKE, D. J.; ZHANG, H. Q. Efficacy of supercritical carbon dioxide for nonthermal inactivation of *Escherichia coli* K12 in apple cider. **International Journal of Food Microbiology**, v.138, p. 91-99. 2010.

YUSTE, S.; MACIÀ, A.; MOTILVA, M. J.; PRIETO-DIEZ, N.; ROMERO, M. P.; PEDRET, A.; SOLÀ, R.; LUDWIG, I. A.; RUBIÓ, L. Thermal and non-thermal processing of red-fleshed apple: how are (poly)phenol composition and bioavailability affected?. **Food Function**, v. 11, 10436, 2020.

ZARDO, D. M.; ALBERTI, A.; ZIELINSKI, A. A. F.; PRESTES, A. A.; ESMERINO, L. A.; NOGUEIRA, A. Influence of solvents in the extraction of phenolic compounds with antibacterial activity from apple pomace. **Separation Science and Technology**, v. 0 p. 1-9, 2020.

ZHANG, J.; WANG, Y.; LU, X. Molecular imprinting technology for sensing foodborne pathogenic bacteria. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 413, p.4581-4598, 2021.

ZHAO, H.; ZHOU, F.; DZIUGAN, P.; YAO, Y.; ZHANG, J.; LV, Z.; ZHANG, B. Development of organic acids and volatile compounds in cider during malolactic

fermentation. **Czech Journal of Food Science.**, v. 32, p. 69 - 76, 2014.

ZHONG, W.; CHEN, T.; YANG, H. LI., E. Isolation and selection of non-*Saccharomyces* yeasts being capable of degrading citric acid and evaluation its effect on kiwifruit wine fermentation. **Fermentation.** v. 6, p.25, 2020.

ZIELINSKI, A. A. F.; ZARDO, D. M.; ALBERTI, A.; BORTOLINI, D. G.; BENVENUTTI, L.; DEMIATE, I. M.; NOGUEIRA, A. Effect of cryoconcentration process on phenolic compounds and antioxidant activity in apple juice. **Journal of the Science of Food and Agriculture.** v.99(6), p. 2786-2792, 2019.

ZUO, W.; ZHANG, T.; XU, H.; WANG, C.; LU, M.; CHEN, X. Effect of fermentation time on nutritional components of red-fleshed apple cider. **Food and Bioproducts Processing,** v. 114, p. 276-285, 2019.