Avaliação da fermentação alcoólica do extrato de bagaço de maçã

Evaluation of the alcoholic fermentation of aqueous extract of the apple pomace

Alessandro Nogueira [1]; Lúcia Dinnies Santos [2]; Cícero Paganini [2]; Gilvan Wosiacki[3]*

Resumo

O principal subproduto da agroindústria da maçã, o bagaço, pode representar de 20 a 40% da quantidade total de maçã processada. Atualmente está sendo utilizado na alimentação animal ou simplesmente dispensado no solo como adubo orgânico. Entretanto, devido à sua constituição pode causar hiper-alcoolemia no gado e também acarretar problemas ambientais. Neste trabalho foi avaliado o aproveitamento do bagaço de maçã do cultivar Fuji para a obtenção de extrato aquoso para a fermentação alcoólica. O suco de maçã e o bagaço foram obtidos em escala de laboratório. O bagaço foi dividido em três lotes com o mesmo peso, sendo que o primeiro recebeu água na razão 1/1 (v/m) e foi homogeneizado e prensado; o extrato resultante foi adicionado ao segundo lote e o processo foi repetido no terceiro. O processo de extração do bagaço de maçã resultou em extrato com teor de açúcares redutores totais de 7,62 g.100mL^{-1}, o que representa 60% de açúcares redutores totais presentes no suco de maçã. O teor de açúcares de 2,3L do extrato de bagaço de maçã foi corrigido para 12,5ºBrix adicionando-se sacarose. A composição físico-química do suco de maçã, extrato e extrato corrigidofoi determinada antes e depois da fermentação alcoólica.A concentração de nitrogênio total e N-a-aminado no extrato de bagaço de maçã foi maior do que no suco de maçã. Verificou-se que o extrato de bagaço de maçã constitui num ótimo meio para a produção de fermentado alcoólico. Os fermentados de suco de maçã, extrato de bagaço de maçã e extrato de bagaço de maçã corrigido para 12,5ºBrix apresentaram respectivamente 6,9ºGL, 4,30ºGL e 7,30ºGL.

Palavras-chave: Agroindústria, maçã, bagaço, fermentação, álcool

Abstract

The main by-product of apple agroindustry, the apple pomace, may represent from 20 to 40% of the total amount of processed raw material. Indeed, this apple pomace has been used for animal breeding or simply delivered on the soil. However, due to its composition it may cause diarrhea in cattle and also show a high environmental impact. This work was designed to evaluate such a rejected industrial residue concerning the quality of the aqueous extract for alcoholic fermented production. The variety Fuji was processed in a laboratory scale and its apple juice was a reference. The apple pomace was divided in three parts with the same weight. The first one was treated with water 1/1 (v/m), homogenized and pressed; this extract was added to the second part and homogenized and pressed. This second extract was added to the last part, and also homogenized and pressed. The composition of the apple juice and of the extract were determined before and after the fermentation. The extract showed 60% as yield of the total sugars and total acidity were the same in the apple juice. The total nitrogen and N a-amino acid concentration were both higher in the extract as compared to the apple juice. The yeast did not present any lack for the fermentation process. Apple pomace extract was suitable substrate for alcohol fermentative process. The apple juice, extract pomace and extract pomace added with sacarose fermentation show 6,9ºGL, 4,30ºGL e 7,30ºGL, respectively.

Key words: Agroindustry, apple pomace, fermentation, alcohol

[1] Doutor em Processos Biotecnológicos Agroindustriais.

[2] Acadêmicos do Curso de Engenharia de Alimentos.

[3] Departamento de Engenharia de Alimentos, Setor de Ciências Agrárias e de Tecnologia, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Av. Gal. Carlos Cavalcanti, 4748 Campus Universitário de Uvaranas. CEP 84.030-900 Ponta Grossa PR. Email: wosiacki@uol.com.br

* Autor para correspondência.

Recebido para publicação 17/08/04 Aprovado em 15/04/05

Introdução

Processamento de maçãs brasileiras está em sua fase inicial já que recentemente foi atendido o mercado doméstico altamente exigente na qualidade deste produto agrícola (WOSIACKI; NOGUEIRA; SILVA, 2000). Na safra de 2003/2004 a produção de maçãs foi de 748.312 toneladas, o que pode representar um descarte de aproximadamente 225 mil toneladas (30%), proveniente da classificação comercial e do rigoroso processo de seleção utilizado para satisfazer as exigências do consumidor brasileiro (ABPM, 2004; KENNEDY et al., 1999). Neste descarte, aproximadamente 10% correspondem a frutas de má qualidade, com problemas fitossanitários. Elas são normalmente descartadas ou destinadas ao processamento de fermentados como a sidra, vinagre e destilados. O restante do descarte (20%) pode ser utilizado na fabricação de suco de maçã clarificado ou concentrado (WOSIACKI et al., 2002).

Como principal subproduto da agroindústria da maçã tem-se o bagaço (resíduo de extração) que representa de 20 a 40% da quantidade total de maçã processada. A quantidade gerada e sua composição estão diretamente relacionadas com a tecnologia empregada na extração do suco (STURZA, 1995; HANG, 1987). O bagaço consiste na torta resultante da prensagem das maçãs e compreende as cascas e polpas (94,5%), as sementes (4,4%) e os centros (1,1%) (KENNEDY et al., 1999). Esse subproduto contém 80% de umidade, 11,6-44,5% de fibras compostas por 12,0-23,2% de celulose, 6,4-19,1% de lignina, 3,5-18,0% de pectina e 5,0-6,2% de hemicelulose, além de 14% de sólidos solúveis dos quais a maioria corresponde aos açúcares glucose, frutose e sacarose. Com esta composição o bagaço é altamente susceptível à deterioração por microrganismos e, portanto, a disposição inadequada do material pode acarretar problemas de forte impacto ambiental (DOWNING, 1989; CHEN; RUBENTHALER; SCHANUS, 1988; KENNEDY et al., 1999).

No Brasil o bagaço é dispensado no solo como adubo orgânico ou utilizado como ração animal, porém a fermentação no rúmen provoca hiper-alcoolemia, com prejuízos à saúde do gado bovino e à qualidade do seu leite (VILLAS BOAS; ESPÓSITO, 2001; KENNEDY et al., 1999). Contudo, o bagaço constitui-se num ótimo substrato para finalidades biotecnológicas que compreendem produção de etanol (fermentação em estado sólido), aromas, gás natural, ácido cítrico, pectinas, enzimas e cogumelos, além de outras como extração de fibras e carvão vegetal (DOWNING, 1989; NGADI; CORREIA, 1992; CHEN; RUBENTHALER; SCHANUS, 1988; BEROVIC; OSTROVERSNIK, 1997; ALMOSNINO; BELIN, 1991; JEWELL; CUMMINGS, 1984; KENNEDY et al., 1999). Na Europa utiliza-se o esgotamento do bagaço (processo de difusão) para aumentar o rendimento de suco ou de sidra, porém o custo é elevado uma vez que necessita ser clarificado, filtrado e concentrado (GLUNK, 1981).

A lavagem do bagaço pode ser interessante por promover o esgotamento dos sólidos solúveis, concentrando as fibras e tornando o bagaço apropriado para a alimentação de animais. Além disso, o extrato obtido possui elevado teor de sólidos solúveis e nutrientes, que pode ser empregado para fermentação alcoólica (PAGANINI et al., 2003).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o extrato aquoso do bagaço de maçã para a produção de um fermentado alcoólico utilizando amostras de frutas do cultivar Fuji.

Materiais e Métodos

As amostras do cultivar Fuji foram obtidas no comércio local, na cidade de Ponta Grossa – PR. Os reagentes químicos utilizados foram de padrão pró-análise. As enzimas foram doadas pela NOVOZYMES do Brasil (Pectinex).

Uma amostra de 20 Kg de maçã foi processada como descrito por Wosiacki et al. (1989) obtendo-se como produtos o suco e o bagaço de maçã. O suco de maçã foi despectinizado com as enzimas

pectinolíticas na concentração de 3 $mL.hL^{-1}$ e trasfegado para recipientes, com posterior congelamento à -18°C. O suco de maçã inicial foi utilizado como controle no processo fermentativo. Para a obtenção do extrato, o bagaço foi dividido em três lotes com mesmo peso (2,6 kg). No primeiro lote adicionou-se água na razão de 1/1 (massa/volume), foi homogeneizado durante 15 minutos e prensado por 5 minutos à pressão de 3 $kgf.cm^{-2}$. O extrato resultante (3,5 L) foi adicionado ao segundo lote de bagaço e o procedimento foi repetido, obtendo-se após a prensagem 4,1 L de extrato. Esse extrato obtido foi adicionado ao terceiro lote, o qual foi submetido ao mesmo procedimento, tendo como resultado final 4,7 L de extrato utilizado no experimento. Após a obtenção do extrato, adicionou-se a enzima (3 $mL.hL^{-1}$) para a despectinização, porém não foi observado efeito deste processo. O extrato foi dividido em duas partes sendo que em uma parte o teor de açúcares foi corrigidode acordo com o teor inicial do suco de maçã (12,5ºBrix) mediante a adição de sacarose (Figura 1).

Amostras de 700 mL de suco de maçã, extrato de bagaço de maçã e extrato de bagaço de maçã corrigido para 12,5ºBrix foram transferidas para frascos Erlermmeyers de 1 L, previamente esterilizados em autoclave (121ºC/1atm/20 min.) Os três frascos foram inoculados com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Uvaferm CK – Danstar Ferment AG, Dinamarca), comercializada na forma seca ativa, re-hidratada em solução de glucose a 3% durante 20 minutos. A concentração inicial de células nos mostos foi de $1,0x10^6$ $ufc.mL^{-1}$. A fermentação transcorreu em temperatura ambiente (19-25 °C) e as amostras foram retiradas após homogeneização por agitação durante 5 minutos. Em seguida foi feita a contagem de leveduras, e o restante da amostra foi centrifugada (Centrífuga CELM COMBATE, Série 3548) durante 15 minutos a 3000 rpm a fim de eliminar a biomassa. Após este procedimento as amostras foram congeladas (-18,0 °C) para posteriores análises.

Foram realizadas análises físico-químicas do suco, extrato de bagaço de maçã e do extrato de bagaço de maçã corrigido para 12,5ºBrix., antes e após a fermentação. As técnicas utilizadas para açúcares solúveis, açúcares redutores totais, pH, compostos fenólicos, acidez total, nitrogênio total, cinzas, alcalinidade das cinzas solúveis e insolúveis foram descritas por Tanner e Brunner (1985) e INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1976). O número de formol foi determinado segundo Tanner e Brunner (1985) e Baron, Bohuon e Drilleau (1977). O teor de cálcio foi avaliado segundo Silva (1981). A concentração de glicose foi determinada através do método enzimático colorimétrico (Gold Analisa Diagnóstica, Glicose-pp, cat. 134e). A concentrações de frutose e a sacarose foram estimadas por diferença, sendo a primeira entre açúcares redutores solúveis e glicose, e a segunda, açúcares redutores totais e açúcares redutores solúveis. O grau alcoólico foi determinado através do ebuliômetro (Ebuliômetro 3300, Metalúrgica Leonardo Ltda). A contagem das células viáveis foi realizada em câmara de Neubauer (XB-K-25, SMIC, China) com solução contendo 0,01% de e 2% de citrato de sódio, como descrito por Sussman (1974).

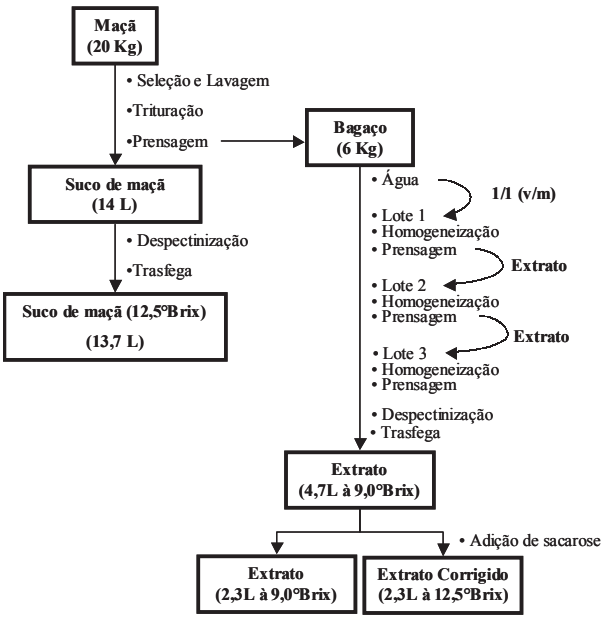

Figura 1 - Esquema da obtenção do suco de maçã, do extrato de bagaço de maçã e do extrato de bagaço de maçã corrigido para 12,5ºBrix.

Resultados e Discussão

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados das análises físico-químicas. O teor de açúcares redutores totais no suco de maçã e no extrato foi 12,54 e 7,62 g.100mL^{-1} respectivamente, o que representa um rendimento na extração de açúcares do bagaço de maçã. O rendimento de açúcares redutores no processo de extração foi de 65%, uma vez que o suco apresentou 10,83 g.100mL^{-1} e o extrato do bagaço de maçã 7,05g.100mL^{-1}. O rendimento de sacarose, frutose e glicose, no processo de extração do bagaço de maçã, foi 33%, 67% e 60% respectivamente. A fermentação foi conduzida até a completa utilização dos açúcares pela levedura não tendo sido detectados açúcares residuais (Tabela 1).

Os valores iniciais de acidez total do suco de maçã e do extrato de bagaço de maçã corrigido para 12,5ºBrix foram respectivamente 0,21 e 0,19 g.100mL^{-1}, sendo que após a fermentação a acidez total aumentou para 0,34 g.100mL^{-1}. Entretanto a acidez total do extrato de maçã não alterou após a fermentação. Os valores de pH confirmam os resultados da acidez total (Tabela 1).

Com relação aos teores de compostos fenólicos, tanto o suco de maçã quanto os extratos apresentaram valores similares. Entretanto, após o processo fermentativo os teores diminuíram de forma mais evidente nos extratos, apresentando uma diminuição de aproximadamente 296 mg.L^{-1} de catequinas comparada, com a de 61 mg.L^{-1} no mosto (Tabela 1). Segundo Renard et al. (2001) esta diferença na redução de fenóis é devido à concentração de compostos fenólicos de alto grau de polimerização (GP) que podem estar presentes no extrato. Estes compostos podem associar-se com a parede celular das leveduras e conseqüentemente, serem eliminados no processo de clarificação por separação das mesmas.

O suco de maçã e o extrato apresentaram valores de 185 e 230 mg.L^{-1} de nitrogênio total respectivamente. Durante a fermentação alcoólica foram consumidos 100, 136 e 156 mg.L^{-1} de nitrogênio do suco de maçã, do extrato e do extrato corrigido, respectivamente, o que indicou elevados teores de nitrogênio residual nos extratos fermentados. Neste caso, poderia ser adicionado mais açúcar para elevar o grau alcoólico do fermentado sem que houvesse um comprometimento do processo fermentativo. Paganini et al. (2003) no estudo de aproveitamento de bagaço de maçã para a produção de álcool e obtenção de fibras alimentares também observaram teores mais elevados de nitrogênio e magnésio no extrato do bagaço de maçã do que no suco de maçã. Este último elemento está relacionado diretamente com a resistência da levedura ao etanol (WALKER, 1999).

Tabela 1 - Composição físico-química do suco de maçã e dos extratos antes e após a fermentação.

Análises	Suco de maçã	Suco Fermentado	Extrato Original	Extrato Fermentado	Extrato Corrigido*	Extrato Corrigido* Fermentado
Açúcares redutores totais, g.100mL^{-1}	12,54	nd.	7,62	nd.	12,96	nd.
Açúcares redutores, g.100mL^{-1}	10,83	nd.	7,05	nd.	7,25	nd.
Sacarose, g.100mL^{-1}	1,71	nd.	0,57	nd.	5,71	nd.
Frutose, g.100mL^{-1}	7,80	nd.	5,24	nd.	5,44	nd.
Glicose, g.100mL^{-1}	3,03	nd.	1,81	nd.	1,81	nd.
Acidez total, g.100mL^{-1}	0,21	0,34	0,19	0,19	0,19	0,34
pH	4,55	3,78	4,02	3,89	4,02	3,56
Fenóis totais, mg.L^{-1} de catequinas	395,88	335,18	396,91	127,57	396,91	130,88
Nitrogênio, mg.L^{-1}	185,00	89,00	230,00	94,00	230,00	74,00
Número de formol, mg N α-aminado.L^{-1}	56,00	28,00	140,00	28,00	140,00	28,00
Cinzas, g.100mL^{-1}	1,44	0,26	0,20	0,19	0,20	0,13
Alcalinidade das cinzas solúveis**	27,31	31,09	26,90	28,99	27,31	26,64
Alcalinidade das cinzas insolúveis**	15,10	15,28	15,25	15,35	15,25	15,42
Cálcio, %	0,06	0,06	0,07	0,06	0,07	0,07
Grau alcoólico, ºGL	-	6,90	-	4,30	-	7,30

Nota: (*) Mesma composição do extrato, apenas corrigido com sacarose comercial; (**) solução normal %; (nd.) não determinado pela técnica utilizada.

A concentração de nitrogênio a-aminado, determinado pelo número de formol, foi baixa no suco de maçã (56 mg.L^{-1}) e elevada nos extratos iniciais (140 mg.L^{-1}). Essa fração de nitrogênio contém os aminoácidos mais facilmente assimilados pela levedura, porém também apresenta aqueles que não o são (Nogueira, 2003), os quais corresponderam a 28 mg.L^{-1} para o cultivar desta pesquisa.

Com relação aos teores de minerais determinados pelas cinzas (Tabela 1), observou-se que o suco de maçã apresentou um teor maior (1,44 g.100mL^{-1}) em comparação aos extratos iniciais (0,20 g.100mL^{-1}). Entretanto a levedura não apresentou sinais de carência relacionados à nutrição mineral, uma vez que os valores de alcalinidade das cinzas solúveis e

insolúveis não apresentaram diferença para o suco, extrato e extrato corrigido (Tabela 1). O suco de maçã e os extratos de bagaço de maçã apresentaram teores de cálcio entre 0,06 a 0,07%, porém a necessidade deste elemento para estimular o crescimento da levedura é inferior a 1 mM (Walker, 1999).

Na Figura 2 pode ser observado que o crescimento das leveduras durante a fermentação foi o mesmo para o mosto, o extrato e o extrato corrigido, partindo da concentração de $1,0x10^6$ $ufc.mL^{-1}$ e alcançando uma população máxima de $1,0x10^8$ $ufc.mL^{-1}$ em aproximadamente 25 horas de fermentação. A fermentação foi interrompida após 255 horas, quando praticamente todos os açúcares haviam sido consumidos.

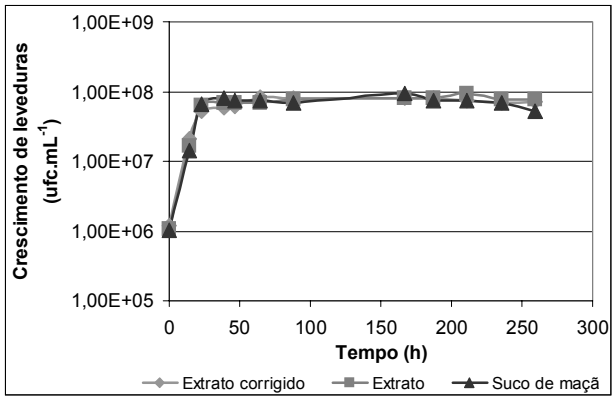

Figura 2 - Cinética de crescimento da levedura durante a fermentação alcoólica de suco de maçã, extrato de bagaço de maçã e extrato de bagaço de maçã corrigido para 12,5ºBrix.

Monitoramento diário do processo fermentativo permitiu observar o consumo de açúcares totais, cujos valores são apresentados na Figura 3.

No decorrer da fermentação foi observada diferença no consumo de açúcares no mosto de suco de maçã e no extrato de bagaço de maçã corrigido para 12,5ºBrix. A concentração de açúcares redutores totais, no suco de maçã, atingiu 2,0 $g_{ART}.100mL^{-1}$ após 88 h de fermentação enquanto que no extrato corrigido esse valor foi alcançado após 148 h de fermentação. Esta diferença pode ser explicada pelo fato do extrato ter sido corrigido com sacarose, a qual deve ser hidrolisada pela invertase produzida pela própria levedura antes da sua utilização, uma vez que no suco de maçã o teor de sacarose inicial foi de 1,71 e no extrato de 5,71 $g.100mL^{-1}$. Como pode ser observado na Figura 3 o consumo de açúcares foi o mesmo no suco de maçã e no extrato corrigido até aproximadamente 9,0 $g_{ART}.100mL^{-1}$. Esta transformação de 3,5 $g_{ART}.100mL^{-1}$ em mesmo intervalo de tempo pode ser devido aos teores iniciais de glucose o qual é três (3) vezes mais rapidamente assimilado que a frutose pela levedura *Saccharomyces* (MAITRA, 1970; D´AMORE; RUSSEL; STEWART, 1989; MARC, 1982). Mesmo assim, a levedura foi capaz de transformar todos os açúcares, mesmo no extrato corrigido o que possibilita ao produtor, que objetiva a destilação, um ganho maior no teor alcoólico.

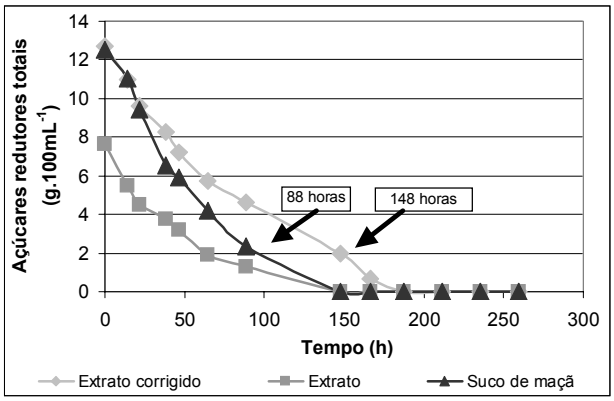

Figura 3 – Consumo de açúcares redutores totais durante a fermentação de suco de maçã, extrato de bagaço de maçã e de extrato de bagaço de maçã corrigido para 12,5ºBrix.

A evolução do teor alcoólico está apresentada na figura 4. Nota-se que o teor alcoólico evoluiu de forma semelhante na fermentação do suco de maçã, do extrato de bagaço de maçã e do extrato de bagaço corrigido para 12,5ºBrix.

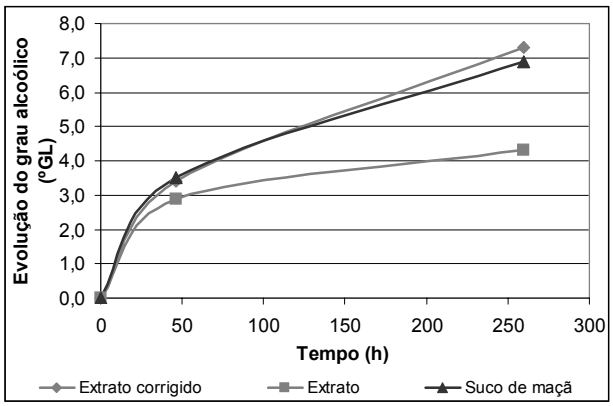

Figura 4 – Teor alcoólico durante a fermentação de suco de maçã, extrato de bagaço de maçã e extrato de bagaço de maçã corrigido para 12,5ºBrix.

Conclusões

processo de obtenção do extrato de bagaço de maçã é simples e barato além de constituir um ótimo meio para a produção de um fermentado alcoólico. Os teores de álcool no extrato de bagaço e no extrato de bagaço corrigido foram 4,30ºGL e 7,30ºGL respectivamente. Desta forma, o bagaço de maçã pode ser utilizado tanto por pequenos produtores como pelas grandes indústrias de processamento na obtenção de destilados, vinagre e etanol.

Agradecimentos

Os autores são profundamente agradecidos ao órgão de fomento CNPq pelo fornecimento das bolsas que subsidiaram o trabalho dos pesquisadores e a Novozymes do Brasil por ter cedido as enzimas. Este é mais um artigo produzido sob a égide do Grupo de Trabalho sobre Maçã – GTM.

Referências

ALMOSNINO, A. M.; BELIN, J. M. Apple pomace: an enzyme system for producing aroma compounds from polyunsaturated fatty acids. *Biotechnology Letters*, London, v. 13, n. 12, p. 893-898, 1991.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE MAÇÃ. *Dados estatísticos sobre a cultura da macieira.* Disponível em:<http://www.abpm.org.br>. Acesso em: 4 fev. 2004.

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

BEROVIC, M.; OSTROVERSNIK, H. Production of *Aspergillus niger* pectolytic enzymes by solid state bioprocessing of apple pomace. *Journal of Biotechnology,* Amsterdam, v. 53, n. 1, p. 47-53, 1997.

CHEN, H.; RUBENTHALER, G. L.; SCHANUS, E. G. Effect of apple fiber and cellulose on the physical properties of wheat flour. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 53, n. 1, p. 304-305, 1988.

D'AMORE, T.; RUSSELL, I.; STEWART, G. G. Sugar utilization by yeast during fermentation. *Journal of Industrial Microbiology,* Hampshire, v. 4, n. 4, p. 315-324, 1989.

DOWNING, D. L. *Processed apple product.* New York: Van Nostrand Reinhold, 1989. p.169-187.(Apple cider).

GLUNK, U. Increasing the juice yield of pressing – with special remarks on the water extraction of apples. *Flüssiges Obst*, Schonborn, v. 48. n. 8. p. 235-237, 1981.

HANG, Y. D. Production of fuels and chemicals from apple pomace. *Food Technology*, Chicago, v. 41, n. 3, p. 115-117, 1987.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas Analíticas*, 3. Métodos físicos e químicos para análise de alimentos. São Paulo, 1976.

JEWELL, W. J.; CUMMINGS, R. J. Apple pomace energy and solids recovery. *Journal of Food Science,* Chicago, v. 49, n. 2, p. 407-410, 1984.

KENNEDY, M.; LIST, D.; LU, Y.; FOO, L. Y.; NEWMAN, R. H.; SIMS, I. M.; BAIN, P. J. S.; HAMILTON, B.; FENTON, G. Apple pomace and products derived from apple pomace: uses, composition and analysis.In: LINSKENS, H. F.; JACKSON, J. F. (Ed.). *Modern methods of plant analyses. Analysis of plant waste materials.* Berlin: Springer Verlag, 1999. p. 75-119.

MAITRA, P. K. A glucokinase from *Saccharomyces cerevisiae*. *The Journal of Biological Chemistry*, Bethesda, v. 245, n. 9, p. 2423-2431, 1970.

MARC, I. La levure en fermentation: étude bibliographique. *Bios*, Genova, v. 13, n.10, p. 45-53, 1982.

NGADI, M. O.; CORREIA, L. R. Solid state ethanol fermentation of apple pomace as affected by moisture and bioreactor mixing speed. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 57, n. 3, p. 667-670, 1992.

NOGUEIRA, A. *Tecnologia de processamento sidrícola. Efeito do oxigênio e do nitrogênio na fermentação lenta da sidra*. 2003. 166p. Tese (Doutorado)- Setor de Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

PAGANINI, C.; NOGUEIRA, A.; SILVA, N. C. C.; WOSIACKI, G. Beneficiamento do bagaço de maçã visando a produção de álcool ou concentrado de fibras. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 5., 2003, Campinas. *Anais*...Campinas, 2003.

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 Biological Macromolecules,* Amsterdam, v. 29, n. 2, p. 115-125, 2001.

SILVA, D. J. *Análise de Alimentos*: métodos químicos e biológicos**.** Viçosa: UFV, 1981.

STURZA, R. C. M. C. *Aproveitamento biotecnológico dos resíduos provenientes da extração do suco de maçã por fermentação no estado sólido.* Curitiba: UFPR, 1995. 81p.

SUSSMAN, A. S. *Microrganismos*. Crescimento, nutrição e interação**.** São Paulo: Edart, 1974.

TANNER, H.; BRUNNER, H. R. *Getränke Anlytik* – Untersuchungsmethode für dia Labor-und Betribspraxis**.** Wädesnwill: Verlag Helles, 1985.

VILLAS BOAS, S. G.; ESPOSITO, E. Bioconversão do bagaço de maçã. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, Brasília, ano. 3, n. 14, p. 38-42, 2000.

WALKER, G. M. *Yeast physiology and biotechnology***.** London: John Wiley & Sons, 1999.

WOSIACKI, G.; NAMIUCHI, N. N.; CERIBELI, M. I. P. F.; SATAQUE, E. Y.; SICHIERI, V. L. F. S.;

OLIVEIRA, T. C. R. M.; OLIVEIRA CESAR, E. Estabilidade do suco clarificado de maçã. *Arquivos de Biologia e Tecnologia***,** Curitiba, v. 32, n. 4, p. 775-786, 1989.

WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A.; SILVA, N. C. Brazilian apple production – A fews years later. *Fruit Processing***,** Schonborn, v. 12, p. 472-475, 2000.

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