



Universidade Federal de Campina Grande
Centro de Ciências e Tecnologia
Doutorado em Engenharia de Processos

Tese de Doutorado

Enriquecimento Protéico do Mandacaru sem Espinhos
(*Cereus jamacaru* P.DC) e Palma Forrageira (*Opuntia ficus-
indica* Mill) por Fermentação Semi-Sólida

Lúcia de Fátima Araújo

Campina Grande, Pb
Julho - 2004

Enriquecimento Protéico do Mandacaru sem Espinhos
(*Cereus jamacaru* P.DC) e Palma Forrageira (*Opuntia ficus-
indica* Mill) por Fermentação Semi-Sólida

Lúcia de Fátima Araújo

Tese de Doutorado apresentada à
Coordenação do Curso de Doutorado em
Engenharia de Processos da Universidade
Federal de Campina Grande – Campus I,
como parte dos requisitos necessários para
obtenção do Grau de Doutora em Engenharia
de Processos.

Área de Concentração: Processos Químicos

Flávio Luiz Honorato da Silva, Dr.

Orientador

Américo Perazzo Neto, Dr.

Orientador

Campina Grande, Paraíba, Brasil
Julho - 2004



A663e
2004

Araújo, Lúcia de Fátima

Enriquecimento Protéico do Mandacaru sem Espinhos (*Cereus jamacaru* P.DC) e Palma Forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill), por Fermentação Semi-Sólida / Lúcia de Fátima Araújo – Campina Grande: UFCEG, 2004.

195 p. il.

Inclui bibliografia

Tese (Doutorado em Engenharia de Processos)

UFCEG/CCT

1. Enriquecimento Protéico 2. Levedura 3. Mandacaru sem Espinhos 4. Palma Forrageira

I. Título

CDU: 577.122.5: 582.825/4

Enriquecimento Protéico do Mandacaru sem Espinhos (*Cereus jamacaru* P.DC)
e Palma Forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) por Fermentação Semi-Sólida

Lúcia de Fátima Araújo

Tese Aprovada em: 02 de Julho de 2004


Flávio Luiz Honorato da Silva DEQ/CCT/UFCG
(Orientador)


Américo Perazzo Neto DF/CCA/UFPB
(Orientador)


Iracema de Oliveira Moraes UNESP/SP e UNG/SP
(Avaliadora Externa)


Ariosvaldo Nunes de Medeiros DZ/CCA/UFPB
(Avaliador Externo)


Líbia de Sousa Conrado Oliveira DEQ/CCT/UFCG
(Avaliadora Externa)


Odelsia Leonor Sanches de Alsina DEQ/CCT/UFCG
(Avaliadora Interna)

Dermeval Araújo Furtado DEAg/CCT/UFCG
(Suplente)

Aderbal Marcos de Azevedo Silva DMV/CSTRIUFPB
(Suplente)

DEDICATÓRIA

A meus pais, Inácio Bezerra de Araújo (in memorian) e Josefa de Castro Araújo, por ter recebido de vocês o dom mais precioso do universo, a vida. Vida é luz, e você mamãe soube redimensionar um amor tão grande para com todos ao seu redor, que fez de mim um ser humano capaz de suplantar todas as barreiras e chegar ao ápice tão sonhado e, que se tornou realidade. Não tenho palavras para agradecer-lhe, no entanto meu coração pulsa muito forte, quando da sua luta para educar-nos, e dedico humildemente toda a minha jornada em especial a você, que soube ser mãe, amiga e companheira.

Ao meu esposo Silvío, como prova de reconhecimento pelo apoio e incentivo dedicados na fase de execução deste trabalho.

Aos meus filhos, Raquel, Aluska e Franklin, que compartilharam cada dia desta jornada, e com toda certeza, é a razão deste trabalho.

Aos meus irmãos, Laerson (saudoso), Leuda e Luis Carlos, pelos momentos felizes que compartilhamos na infância, pelos caminhos difíceis que trilhamos juntos na ausência do nosso pai.

Aos meus sobrinhos, Carlos Roberto, Laerson Junior, Carla Raphaela, Calina Renalli, Lucas e Lara, pelo amor e carinho.

Aos meus cunhados Roberto, Silvana (saudosa) e Laudjane, pelo apoio e convivência.

“Aos que viveram esta jornada, direta ou indiretamente, não vou esquecer nunca. Foi um tempo que marcou a minha vida, tempo de estudo, trabalho, tentativas, erros e acertos, mas principalmente, tempo de estarmos juntos... Dedico”.

“Tal como a chuva e a neve caem do céu e para lá não voltam sem ter regado a terra, sem a ter fecundado, e feito germinar as plantas, sem dar o grão a semear, o pão a comer, assim acontece à palavra que minha boca profere: não volta sem ter produzido efeito, sem ter executado minha vontade e cumprido sua missão.”

(Isaías, 55: 10 e 11)

Ao Prof. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva

A você que com profissionalismo, conhecimento, amizade, paciência e solidariedade colaborou para a realização deste trabalho, minha admiração e meu muito obrigado.

Agradecimentos

Á Deus, que tem me proporcionado força, coragem e perseverança nesta oportunidade de aprendizado, crescimento e realização, que sem sua vontade nada disso seria possível.

Ao Diretor Presidente da Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba – EMEPA- PB, Dr. Miguel Barreiro Neto, pela oportunidade que me deu para realização deste trabalho.

Ao Engenheiro Agrônomo José Ivan Tavares Granjeiro, Coordenador da CRLS- EMEPA – PB, pelo apoio e sincera amizade, com certeza sem a sua compreensão este trabalho não teria sido realizado.

Ao pesquisador da EMEPA-PB, Elson Soares dos Santos e demais responsáveis pela impressão gráfica dos exemplares da Tese, profundos agradecimentos.

A Coordenadora do Curso de Doutorado em Engenharia de Processos, Profa. Dra. Odelsia Leonor Sanchez de Alsina, que acreditou no meu trabalho e não mediu esforços para me ajudar.

Ao meu Co-orientador Prof. Dr. Américo Perazzo Neto, profundos agradecimentos pela sincera orientação no trabalho.

Ao Zootecnista Prof. Dr. Ariosvaldo Nunes de Medeiros, meus agradecimentos pelo apoio, valiosas sugestões e boa vontade dispensada na execução deste trabalho.

A Profa. Dra. Líbia de Sousa Conrado Oliveira pelas valiosas sugestões, como também pela incansável atenção e amizade dispensada no decorrer deste trabalho.

Aos professores do Departamento de Engenharia Química e do Departamento de Engenharia Agrícola, agradeço a oportunidade que me foi dada de vivenciar uma experiência rica, completa e inesquecível.

Ao Zootecnista Prof. Dr. Aderbal Marcos de Azevedo Silva, pela grande contribuição dada na realização das análises da proteína verdadeira do material experimental e valiosas sugestões.

Ao Engenheiro Agrônomo, Dr. Antônio Quirino Alves, pela colaboração prestada na implantação e tratos culturais do campo experimental nas bases físicas da Fazenda Donana.

Aos funcionários dos Laboratórios de Engenharia Bioquímica e Processos Químicos do DEQ- UFCG Sr. Jardes Caiçara, José Lopes e José Nogueira pelo incansável atendimento e colaboração.

Aos funcionários do Laboratório de Análises de Alimentos do CCA/UFPB e ao Coordenador o Zootecnista José Alves , meus sinceros agradecimentos pelo apoio prestado na análise do material experimental.

A professora do Departamento de Engenharia Agrícola: Josivanda, pela oportunidade de realizar algumas etapas do trabalho no Laboratório de Análise de Alimentos.

As amigas, Maria Joana, Selva, Evaneusa, Socorro e as primas Lúcia de Fátima, Neusa e família por serem as pessoas certas nas horas incertas.

A Cícero e família pela acolhida aos meus filhos, às vezes que precisei ausentar-me, na fase de execução do trabalho.

A família do Professor Flávio, pela gentileza e incansável atendimento.

Aos colegas, Professor Vimário, Alessandra, Joelma, Márcia Suely, Moacir, Veruska e Wagner, pela convivência e solidariedade sempre presentes nas suas atitudes.

A secretária do curso de Doutorado Maria de Fátima, juntamente com a secretária do curso de Engenharia Química, Clara Maria, pelo incansável atendimento.

A todos, que de alguma forma contribuíram para que este trabalho se concretizasse.

Muito obrigada

Resumo

Foram estudados os processos de enriquecimento protéico das cactáceas mandacaru sem espinhos e palma forrageira (bioconversão) através da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em fermentação semi-sólida (FSS), cultivadas em condições laboratoriais, sob três níveis de concentrações do inóculo (5, 10 e 15%), espessuras distintas das camadas dos substratos (2, 4 e 6 cm) em várias temperaturas (30, 34 e 38 °C). Foram analisados os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), aumento protéico de proteína bruta (APB), proteína verdadeira (PV), aumento protéico de proteína verdadeira (APV), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose (HC), energia bruta (EB), matéria orgânica (MO) e coeficiente de digestibilidade "in vitro" da matéria seca (DIVMS), cujos resultados foram submetidos à análise de variância, observando-se coeficiente de variação explicada (R^2) e teste F com valores que validam os modelos lineares obtidos da regressão dos dados experimentais, com coeficiente de confiança de 95%. Na análise da cinética da fermentação semi-sólida das duas cactáceas, objetivando determinar o tempo ideal de aumento protéico, os maiores crescimentos do microrganismo na síntese de proteínas, foram obtidos com o tempo de 48 horas. Os valores máximos dos teores protéicos, alcançados nas três concentrações do inóculos, temperaturas e espessuras das camadas estudadas nesse trabalho, foram de 28% e 26% de PB, 320 e 400% de APB, 14 e 11% de PV e 280 e 300% de APV para mandacaru sem espinhos e palma forrageira, respectivamente, sendo estes valores compatíveis ou maiores do que os concentrados convencionais utilizados como

suplemento protéico para a ração animal. Os concentrados protéicos (bioprodutos) do mandacaru sem espinhos e da palma forrageira apresentaram alto coeficiente de digestibilidade "in vitro (de aproximadamente 98 e 99% respectivamente) e aumento no valor da energia bruta se comparada com os substratos na forma "in natura". No estudo do levantamento das isotermas de sorção das cactáceas em estudo, foram obtidas isotermas nas temperaturas de 30, 35 e 40⁰C. Observou-se que para trabalhar com atividade de água ótima (0,87) para o crescimento da levedura, deve-se iniciar o processo de fermentação com umidade inicial do substrato em torno de 90% e para conservar os enriquecidos, sem resfriar e adicionar aditivos, deve-se ter umidades residuais em torno de 15%. Conclui-se que houve eficiência na bioconversão do processo, transformando as cactáceas em estudo em bioproduto de alto valor agregado similar ou maior que os concentrados convencionais, podendo ser utilizado como alternativa alimentar para os animais na época de escassez de alimentos na região Semi Árida do Nordeste.

PALAVRAS CHAVE: enriquecimento protéico, fermentação semi-sólida, palma forrageira, mandacaru sem espinhos, *Saccharomyces cerevisiae*.

Abstract

The microbial protein enrichment process by yeast *Saccharomyces cerevisiae* in semi-solid medium of *mandacarp sem espinho* (*Cereus jamacaru* P.DC) and pear cactus (*Opuntia ficus indica* Mill) was studied. The three variables of cultivation in the laboratory used were: inoculum's concentration (5, 10 and 15 %), substrate layer thickness (2, 4 and 6 cm) and temperature (30, 34 and 38°C). The production rate of dry materi (DM), gross protein (TP) and its increment (ITP), real protein (RP) and its increment (IRP), fibers in acid detergent (FAD) and neutral detergent (NDF), hemicelluloses (HC), total energy (TE), organic material (OM) and *in vitro* dry materi digestibility coefficient (VDMD) were determined. The obtained results were: variance analysis and linear models, which are valid at the level of 95% of confidence coefficient. The kinetics study of the semi-solid fermentations of the two cactus showed to have higher microorganism increments in the protein synthesis, for the fermentation period of 48 hours. The maximum protein amounts achieved under the conditions studied, in the present work, were 28 and 26% for TP, 320 and 400% for ITP, 14 and 11% for RP and 280 and 300% for IRP for *Cereus jamacaru* P.DC and pear cactus mediums respectively. These values are compatible or greater than those of conventional concentrates of protein supplements used for animal feed. The protein concentrates (bio-products) of *Cereus jamacaru* P. DC and pear cactus had a higher *in vitro* digestibility index (98 %) and showed an increase in total energy values when compared with those of the substrates *in natura*. The sorption isotherms at 30, 35 e 40°C temperature,

of the two cactus under study were obtained. In order to work at optimum water activity for the yeast growth it was observed that the fermentation process should be started with about 90% initial substrate moisture. The residual moisture of about 15% should be retained so that the protein enrichment can be maintained without needing cooling or additives. It is concluded that there had been an increase in the bioconversion efficiency. The cactus were transformed in a high value bio-product when compared to conventional concentrates and can be utilized as an alternative animal food during the dry period of scarcity of animal food in the semiarid region of the northeast of Brazil.

KEY WORDS: Protein enrichment, semi-solid fermentation, pear cactus, *Cereus jamacaru* P.DC, *Saccharomyces cerevisiae*.

Lista de Abreviaturas

AOAC – Association Official Analytical Chemists

BET – BRUNAUER – EMMER - TELLER

CCA – Centro de Ciências Agrárias

CCT – Centro de Ciências e Tecnologia

CRLS – Coordenação Regional de Lagoa Seca

CSTR – Centro de Saúde e Tecnologia Rural

DEA – Departamento de Engenharia Agrícola

DEQ – Departamento de Engenharia Química

DZ – Departamento de Zootecnia

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EMEPA – Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba

GAB – GUGGENHEIM – ANDERSON - BÔER

IBGE – Instituto Brasileiro Geográfico e Estatístico

IPA – Instituto de Pesquisa Agropecuária

LEQ – Laboratório de Engenharia Química

LAA – Laboratório de Análises de Alimentos

LNAA – Laboratório de Nutrição e Alimentação Animal

UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

UFPB – Universidade Federal da Paraíba

UNICAMP – Universidade de Campinas

USP – Universidade de São Paulo

Lista de Símbolos

APB – Aumento do Percentual de Proteína Bruta

APV – Aumento do Percentual de Proteína Verdadeira

A_w – Atividade de água

BU – Base Úmida

CAM – Metabolismo Ácido Crassuláceo

C_{BET} – Constante de BET

C_{GAB} – Constante de GAB

CZ – Cinzas

DIVMS – Digestibilidade “in vitro” da Matéria Seca.

EB – Energia Bruta

EE – Extrato Etéreo

ENN – Extrato Não Nitrogenado

FSS – Fermentação Semi-Sólida

FSm – Fermentação Submersa

FDN – Fibra em Detergente Neutro

FDA – Fibra em Detergente Ácido

HC – Hemicelulose

K – Constante de GAB

MM – Matéria Mineral

MO – Matéria Orgânica

MS – Matéria Seca

NDT – Nitrogênio Digestível Total

PB – Proteína Bruta

PV – Proteína Verdadeira

SCP – (Single cell protein) Proteína de microrganismos unicelulares

UR – Umidade Relativa

Xbs – Conteúdo de umidade de equilíbrio

Xm – Conteúdo de umidade na monocamada molecular

Capítulo 1

Resumo.....	vi
Abstract.....	viii
Introdução	1
1.1 Justificativa	3
1.2 Objetivos e Apresentação do Trabalho.....	4

Capítulo 2

Revisão da Literatura	6
2.1 Enriquecimento Protéico por Microrganismos	6
2.1.1 Importância.....	6
2.1.2 Técnicas Utilizadas para Aumentar o Teor de Proteínas na Palma Forrageira.....	10
2.2 Fermentação Semi-Sólida.....	11
2.2.1 Definição.....	11
2.2.2 Vantagens e Desvantagens da Fermentação em Semi-Sólida	11
2.2.3 Breve Histórico da Fermentação Semi-Sólida	12
2.3 Controle do Processo.....	14
2.3.1 Pré-tratamento.....	14
2.3.2 Umidade e Atividade de Água	15
2.3.2.1 Definição.....	15
2.3.2.2 Influência do Teor de Umidade na Fermentação em Meio Semi-sólido.....	16
2.3.2.3 Influência da Atividade da Água (a_w) por Fermentação em Meio Semi-sólido.....	16
2.3.2.4 Atividade de Água com Relação ao Crescimento dos Microrganismos.....	17
2.3.2.5 Isoterma de Sorção.....	18
2.3.2.6 Modelos Matemáticos para Ajuste das Isotermas.....	19
2.3.2.7 Modelo de BET.....	19
2.3.2.8 Equação de GAB.....	20
2.3.3 Granulometria	20
2.3.4 Temperatura	21
2.3.5 pH	22

2.3.6 Espessura da Camada	23
2.3.7 Inóculo	23
2.3.8 Fontes de Nitrogênio e Carbono	24
2.4 Matérias-Primas	25
2.4.1 Microrganismos.....	25
2.4.1.1 Descrição das Leveduras.....	26
2.4.1.2 Características Morfológicas e Fisiológicas da Levedura.....	27
2.4.1.3 Produção de Leveduras	27
2.4.1.4 Composição Química da Levedura	28
2.4.1.5 Breve Histórico da Utilização das Leveduras	29
2.4.2 Características Morfo-fisiológicas dos Cactos	30
2.4.2.1 Mandacaru sem Espinhos (<i>Cereus jamacaru</i> P.DC).....	31
2.4.2.2 Palma Forrageira (<i>Opuntia ficus-indica</i> Mill)	33
2.4.2.3 Breve Histórico da Palma Forrageira	35
2.4.2.4 Taxonomia e Características	36
2.4.2.5 Valor Nutritivo	36
Capítulo 3	
Materiais e Métodos	41
3.1 Introdução	41
3.2 Matérias-Primas	41
3.2.1 Substratos.....	41
3.2.2 Microrganismo	42
3.3 Métodos Experimentais.....	43
3.3.1 Teor de Umidade e Atividade de Água	43
3.3.1.1 Análise do Teor de Umidade	43
3.3.1.1.1 Preparação das Amostras para a Determinação do Teor de Umidade.....	43
3.3.1.2 Análise de Atividade de Água	43
3.3.1.2.1 Preparação das Amostras para Determinação da a_w	44
3.3.2 Estudos da Cinética do Crescimento do Microrganismo em Fermentação Semi-Sólida	45
3.3.2.1 Preparação das Amostras.....	45

3.3.3 Estudo da Verificação dos Efeitos das Variáveis de Entrada (concentração do inóculo, temperatura e espessura da camada) sobre o Processo de Enriquecimento Protéico e Otimização do Processo.....	46
3.3.3.1 Planejamento Fatorial	46
3.3.3.2 Coleta e Preparação das Amostras	47
3.3.3.3 Inoculação do Substrato.....	48
3.3.3.4 Biorreatores.....	48
3.3.3.5 Análises Químicas	50
3.3.3.5.1 Matéria Seca.....	51
3.3.3.5.2 Proteína Bruta.....	51
3.3.3.5.3 Proteína Verdadeira.....	51
3.3.3.5.4 Aumento de Proteína Bruta e Proteína Verdadeira	51
3.3.3.5.5 Energia Bruta	52
3.3.3.5.6 Fibra em Detergente Neutro	52
3.3.3.5.7 Fibra em Detergente Ácido.....	52
3.3.3.5.8 Hemicelulose	53
3.3.3.5.9 Cinzas.....	53
3.3.3.5.10 Digestibilidade "in vitro" da Matéria Seca.....	53

Capítulo 4

Atividade de Água	54
4.1 Introdução	54
4.2 Estudo das Isotermas de Sorção	55
4.2.1 Estudo das Isotermas de Sorção do Mandacaru sem Espinhos	55
4.3 Estudo das Isotermas de Sorção da Palma Forrageira	59
4.4 Considerações Gerais.....	65
4.5 Conclusões	68

Capítulo 5

Estudo da Cinética da Fermentação Semi-sólida do Enriquecimento Protéico das Cactáceas

5.1 Introdução	69
5.2 Cinética da Fermentação Semi-Sólida do Mandacaru sem Espinhos	69
5.3 Cinética da Fermentação Semi-sólida da Palma forrageira.....	71

5.4 Conclusões	73
Capítulo 6	
Estudo do Enriquecimento Protéico das Cactáceas	74
6.1 Introdução	74
6.2 Estudo da Composição Química e da Digestibilidade “in vitro” da Matéria Seca do Mandacaru sem Espinhos na Forma “in natura” e após Enriquecimento Protéico	76
6.2.1 Análise de Regressão dos Modelos Codificados.....	76
6.2.2 Otimização das Variáveis de Entrada do Processo de Enriquecimento Protéico do Mandacaru sem Espinhos	80
6.2.2.1 Análise de Superfície de Resposta para a Variável Matéria Seca (MS) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura	80
6.2.2.2 Análise de Superfície de Resposta para a Variável Proteína Bruta (PB) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura	83
6.2.2.3 Análise da Superfície de Resposta para a Variável do Aumento do Percentual do Teor de Proteína Bruta (APB) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura.....	88
6.2.2.4 Análise da Superfície de Resposta para a Variável Proteína Verdadeira (PV) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura.....	91
6.2.2.5 Análise da Superfície de Resposta para a Variável Aumento do Percentual de Proteína Verdadeira (APV) Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura.....	95
6.2.2.6 Análise da Superfície de Resposta para a Variável Teor de Fibra em Detergente Ácido (FDA) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura.....	99
6.2.2.7 Análise de Superfície de Resposta para a Variável Percentagem do Teor de Fibra em Detergente Neutro (FDN) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura	104
6.2.2.8 Análise de Superfície de Resposta para a Variável Percentagem do Teor de Hemicelulose (HC) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com levedura.....	107

6.2.2.9	Análise de Superfície de Resposta para a Variável Percentagem de Matéria Orgânica (MO) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura	111
6.2.2.10	Análise de Superfície de Resposta para a Variável Teor de Energia Bruta (EB) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura	114
6.2.2.11	Análise de Superfície de Resposta para Variável Coeficiente de Digestibilidade “in vitro” da Matéria Seca (DIVMS) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura.....	118
6.3.	Estudo da Composição Química e da Digestibilidade “in vitro” da Matéria Seca da Palma Forrageira na forma “in natura” e após Enriquecimento Protéico	123
6.3.1	Análise de Regressão dos Modelos Codificados.....	123
6.3.2	Otimização das Variáveis de Entrada do Processo de Enriquecimento Protéico da Palma Forrageira	126
6.3.2.1	Análise de Superfície de Resposta para a Variável Matéria Seca (MS) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura.....	126
6.3.2.2	Análise de Superfície de Resposta para a Variável Proteína Bruta (PB) da Palma Forrageira Enriquecido com Levedura	129
6.3.2.3	Análise da Superfície de Resposta para a Variável Aumento da Percentagem do teor de Proteína Bruta (APB) da Palma Forrageira Enriquecida com Levedura.....	133
6.3.2.4	Análise da Superfície de Resposta para a Variável Proteína Verdadeira (PV) da Palma Forrageira Enriquecida com Levedura	137
6.3.2.5	Análise da Superfície de Resposta para a Variável Aumento do Percentual de Proteína Verdadeira (APV) da Palma Forrageira Enriquecido com levedura.....	141
6.3.2.6	Análise da Superfície de Resposta para a Variável Teor de Fibra em Detergente Ácido (FDA) da Palma Forrageira Enriquecida com Levedura	145
6.3.2.7	Análise de Superfície de Resposta para a Variável Percentagem do Teor de Fibra em Detergente Neutro (FDN) da Palma Forrageira Enriquecida com Levedura	149

6.3.2.8 Análise de Superfície de Resposta para a Variável Percentagem do Teor de Hemicelulose (HC) da Palma Forrageira Enriquecida com Levedura.....	152
6.3.2.9 Análise de Superfície de Resposta para a Variável Teor de Energia Bruta (EB) da Palma Forrageira Enriquecida com Levedura.....	155
6.3.2.10 Análise de Superfície de Resposta para a Variável percentagem de Matéria Orgânica (MO) da Palma Forrageira Enriquecida com Levedura.....	159
6.3.2.11 Análise de Superfície de Resposta para Variável Coeficiente de Digestibilidade “in vitro” da Matéria Seca (DIVMS) da Palma Forrageira Enriquecida com Levedura.....	163
6.4 Considerações Gerais	168
6.4.1 Faixas de Valores das Variáveis que Otimizam o Enriquecimento Protéico do Mandacaru sem Espinhos e Palma Forrageira.....	168
6.5 Conclusões	176
Capítulo 7	
Conclusões Gerais	177
Capítulo 8	
Perspectivas para Trabalhos Futuros	178
Capítulo 9	
Bibliografia	179
Anexo	194

CAPITULO 1

Introdução

Na região Semi-Árida do Nordeste, apesar da importância da pecuária no contexto sócio-econômico, em época de escassez de alimentos, o rebanho bovino apresenta baixos índices de produtividade, em função de vários fatores, principalmente os relacionados com a alimentação. Nesta região os animais estão sujeitos a graves problemas alimentares, determinados pelos longos períodos de estiagem, onde as pastagens nativas, a sua principal fonte forrageira apresenta baixa produtividade, baixa capacidade de suporte e baixo valor nutritivo, refletindo desta maneira na produção de carne e leite. Conseqüentemente, nesta época os criadores da região recorrem ao uso de concentrados comerciais para uma suplementação protéica na dieta dos animais o que onera os custos de produção, tornando a atividade antieconômica.

Com a preocupação de contribuir para o desenvolvimento sustentável desta região, grandes volumes de trabalhos científicos têm sido desenvolvidos, buscando fontes "não convencionais" de proteínas. Entre estes, destacam-se os que se referem ao desenvolvimento de microrganismos como fontes potenciais de proteínas.

Segundo PANDEY (2002), a produção de meios enriquecidos proteicamente para alimentação bovina foi nas duas últimas décadas, a atividade mais reportada, na qual envolveu a utilização de resíduos agro-industriais, oferecendo assim, um desenvolvimento do processo único para aumentar o valor agregado destes com baixo custo de produção. Esta foi uma das áreas na qual gerou-se interesse de pesquisa em fermentação semi-sólida no mundo.

Para NARAYANA (2003), muitos aspectos importantes devem ser considerados para o desenvolvimento de qualquer bioprocessos em fermentação em meio semi-sólido. Estes incluem a seleção adequada de microrganismos, substratos e a otimização dos parâmetros para realização do processo. Pela classificação teórica baseada na atividade de água, principalmente os fungos e as leveduras foram considerados adequados para a fermentação em meio semi-sólido.

Dentre os microrganismos utilizados para este tipo de fermentação, têm-se

destacado a levedura da espécie *Saccharomyces cerevisiae* como excelente fonte protéica, por não apresentar características patogênicas, podendo ser utilizada tanto na alimentação humana como ração para os animais (RODRIGUES, 2001).

A fermentação em meio semi- sólido, identificada como fermentação sólida vai ser chamada neste trabalho de fermentação semi-sólida (FSS), que são os termos utilizados na literatura para descrever o cultivo de microrganismos em substratos sólidos, por entender que as fermentações em meio semi-sólido são aquelas onde o substrato é um material úmido, não suspenso em água e sem escoamento aquoso, que permite o desenvolvimento da fermentação empregando um ou mais microrganismos. Na fermentação semi-sólida quando se discute transferência de massa, refere-se ao consumo de O_2 e produção de CO_2 , pois não existem trabalhos publicados a esse respeito com microrganismos fotossintetizantes, os quais consomem CO_2 e O_2 . GUTIERREZ - PANDAY, 1992 e PELIZER, 2000.

De acordo com HENNIES (1996) e DEL BIANCHI *et al.* (2001), as principais vantagens da fermentação em meio semi-sólido em relação à submersa são: obtenção de produtos concentrados (que facilitam a extração); o baixo teor de umidade dos substratos, propicia o crescimento de fungos filamentosos e leveduras, com menos produção de efluentes, sob condições não estéreis e baixo consumo de água. Os baixos teores de umidade empregados, somados a alta concentração do inóculo incorporado ao meio, reduzem, ou até eliminam o problema de contaminação por microrganismos indesejáveis. O produto final encontra-se mais concentrado, o que permite, na produção de bioinseticidas ou ração animal, o processo direto de secagem e embalagem do produto final obtido, ou mesmo a utilização direta.

A seleção de um substrato apropriado é outro aspecto a ser considerado na fermentação em meio semi-sólido. Os materiais sólidos podem ser um substrato sólido natural tais como os de colheita agrícola, como as cactáceas e resíduos agro-industriais. Contudo, há várias espécies de cactáceas e resíduos agro-industriais que requerem um processamento, para que venha atender em parte as necessidades nutritivas dos animais no período de escassez de alimentos.

1.1 Justificativa

Na região Semi-Árida do Nordeste a vegetação dominante é a caatinga hiper xerófila, que em toda área tem porte arbustivo ou arbóreo arbustivo, com grande quantidade de cactáceas e bromeliáceas. Dentre elas as cactáceas apresentam extraordinária resistência à seca e possibilidade de produzir forragens aquosas, de boa qualidade para alimentação animal, consideradas como um importante recurso forrageiro para a pecuária da região.

Neste prisma, o Nordeste brasileiro possui características favoráveis que justificam o interesse pelo enriquecimento protéico dos vegetais da região, utilizando microrganismos para obtenção de fontes protéicas. Nesta região, a escassez associada ao baixo valor nutritivo das forragens introduz, ao rebanho, baixa produção de leite e carne, perda de peso, infertilidade e em alguns casos levando à morte.

Dos vegetais possíveis de serem cultivados na região Semi-Árida do Nordeste, dentre os apropriados para o cultivo de microrganismos protéicos, destacam-se, o mandacaru sem espinhos (*Cereus jamacaru* P.DC) e a palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill). São plantas resistentes, crescem em solos pobres e sobrevivem com pluviosidade mínima. Estas cactáceas apresentam na sua composição química, alto teor de carboidratos que pode ser empregado como fonte principal para o crescimento de fungos filamentosos ou leveduras. É um substrato rico em açúcares simples como glicose, sacarose e frutose, além de pectina e lignina. Todavia, os teores de proteínas e vitaminas são muito baixos. Em confronto com os concentrados convencionais as cactáceas enriquecidas com fungos adequados, podem equiparar seu valor nutricional, pois serão acrescidas de proteínas microbianas, minerais como fosfato, potássio, cálcio, além de vitaminas do complexo B, importantes fatores de crescimento para os animais (VILAS BOAS, 2000). As características da agricultura e da pecuária na região demonstram a necessidade de se desenvolver e adaptar tecnologias, que propiciem aumento dos índices de produtividade dos rebanhos, através da aplicação de processos de bioconversão.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho teve por objetivo analisar a produção de um suplemento protéico através do processo de bioconversão das cactáceas mandacaru sem espinhos (*Cereus jamacaru* P.DC) e da palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) utilizando o microrganismo *Saccharomyces cerevisiae* por fermentação semi-sólida.

1.2.2 Objetivos Específicos

– Levantamento das isotermas de sorção para as cactáceas em estudo, nas temperaturas de 30, 35 e 40°C. Ajustar os dados utilizando modelos da literatura (GAB e BET);

– Estudo cinético do crescimento do microrganismo na fermentação semi-sólida observando-se o aumento protéico;

– Determinar a composição química e digestibilidade “in vitro” da matéria seca do mandacaru sem espinhos e da palma forrageira na forma “in natura” e após fermentação utilizando a levedura da espécie *Saccharomyces cerevisiae*.

– Verificação dos efeitos das variáveis de entrada (temperatura, concentração inicial do inóculo e a espessura da camada) sobre o aumento do teor de proteína (otimização dos parâmetros necessários para o controle do processo da fermentação em meio semi-sólido).

1.2.3 Apresentação do Trabalho

A apresentação deste trabalho compõe-se, basicamente, de nove (09) capítulos. No capítulo 1, é apresentada uma introdução, onde há uma ligeira explanação sobre a importância do tema a ser abordado, a justificativa e os objetivos da realização deste estudo.

No capítulo 2, encontra-se a revisão da literatura, apresentando informações relevantes sobre o enriquecimento protéico, as matérias-primas utilizadas e as variáveis estudadas para otimização do processo.

No capítulo 3, são apresentados os materiais selecionados e a metodologia utilizada para o desenvolvimento deste trabalho. Este capítulo foi subdividido em cinco tópicos, procurando-se agrupar as metodologias comuns referentes a cada capítulo de resultados. Os tópicos são:

- 3.1) Levantamento das isotermas de sorção das cactáceas estudadas,
- 3.2) Estudo da cinética do crescimento do microrganismo na fermentação semi-sólida, observando-se o aumento protéico,
- 3.3) Estudo do enriquecimento protéico, composição química e digestibilidade “in vitro” da matéria seca dos substratos na forma “in natura” e após fermentação semi-sólida.

No capítulo 4, são apresentados e discutidos os resultados obtidos através dos ensaios da atividade de água do mandacaru sem espinhos e da palma forrageira.

No capítulo 5, são apresentados e discutidos os resultados obtidos através do estudo cinético do crescimento do microrganismo nos substratos em estudo, observando-se o tempo ótimo de aumento protéico.

No capítulo 6, são apresentados e discutidos os resultados obtidos nos estudos do enriquecimento protéico (composição química e digestibilidade “in vitro” da matéria seca dos substratos na forma “in natura” e após a fermentação).

No capítulo 7, são apresentadas as conclusões gerais, destacando-se os resultados mais relevantes, sendo confrontados os objetivos desejados e os resultados alcançados.

No capítulo 8, são apresentadas as sugestões para a continuação do trabalho (perspectivas).

No capítulo 9, são relacionadas as referências bibliográficas citadas em todo o texto do trabalho.

CAPITULO 2

Revisão da Literatura

O presente capítulo tem o intuito de apresentar uma revisão sobre o enriquecimento protéico, fermentação semi-sólida, informações sobre os parâmetros utilizados no controle do processo como umidade e atividade de água, temperatura, espessura da camada, concentração do inóculo, pH, granulometria, microrganismo e substratos utilizados. Esta revisão aborda conhecimentos básicos necessários à compreensão e elaboração deste trabalho.

2.1 Enriquecimento Protéico por Microrganismos

2.1.1 Importância

Segundo BUTOLLO (1996), os freqüentes aumentos nos preços de suplementos protéicos vegetais, utilizados na alimentação dos animais domésticos, tem despertado grande interesse pelo aproveitamento de alimentos "não convencionais" na produção animal do Brasil. Dentre os produtos que podem substituir os suplementos protéicos convencionais usados na alimentação animal, destacam-se os microrganismos (algas, bactérias, e fungos) considerados uma fonte de proteína unicelular.

Para SANTIN (1996), a geração de proteína unicelular para consumo humano tem sido considerada como a maior via de produção de alimentos, a qual elimina as restrições sazonais e de variações climáticas que existem em muitas safras agrícolas, já que a seleção de microrganismos pode ser baseada no valor nutricional e no conteúdo protéico. A produção em larga escala pode vir a se constituir numa das soluções ao problema de deficiência alimentar existente hoje.

O crescimento de microrganismos por fermentação em meio semi-sólido, buscando-se uma tecnologia adaptada às condições rurais, está se tornando atrativo, com chances reais de chegar a um processo economicamente viável. Para este tipo de cultivo, sabe-se que as variações de umidade, pH, tamanho do inóculo, disponibilidade de oxigênio, teor de nitrogênio e teores de fósforo, magnésio e potássio, interferem no crescimento de microrganismos (DAUBRESSE, 1987; BRITES, 2001).

Os microrganismos apresentam uma velocidade de multiplicação celular de aproximadamente 500 vezes maior que a dos vegetais e 10.000 vezes maior que a do gado. Isto ocorre devido à grande área específica dos microrganismos que lhes proporcionam uma velocidade metabólica maior. Animais e vegetais necessitam de extensas áreas e de um ciclo longo para serem utilizados como alimento, enquanto que os microrganismos podem produzir proteínas em poucas horas e em áreas restritas. Dentro deste contexto tem-se realizados trabalhos utilizando-se diversos microrganismos e várias matérias orgânicas visando-se à obtenção de proteínas que venham minimizar a desnutrição que assola o mundo (VAN DEN HOMBERGH *et al.*; MENEZES *et al.*; GUERRA *et al.*; STAMFORDD *et al.*; ANTONINI *et al.*; citados por PERAZZO NETO, 1999).

A produção de células microbianas para ração animal e humana, vem sendo explorada em função de buscas de alternativas de aumento da quantidade e qualidade da alimentação. Na Tabela 1 estão expostos os tempos de geração de vários organismos. Em que o tempo de geração corresponde ao tempo gasto pelo organismo para a duplicação da massa.

Tabela 2.1 Tempo de duplicação de massa de alguns organismos

Organismos	Tempo de geração
Leveduras e bactérias	20 -120 minutos
Algas	2 - 48 horas
Capins	1 - 2 semanas
Galinhas	2 - 4 semanas
Porcos	4 - 6 semanas
Gado	1 - 2 meses

Fonte: AIBA *et al.* (1971)

Um boi de 450Kg ganha cerca de 0,45Kg de proteína por dia; em contraste, 450Kg de levedura produzirão diversas toneladas de proteínas em apenas um dia. O conteúdo de proteína das células microbianas é muito alto e essas proteínas, na maioria das vezes, contêm todos os aminoácidos essenciais (PELCZAR *et al.*, 1996).

VILAS BÔAS *et al.* (2001), realizaram pesquisas para biossíntese do bagaço de maçã utilizando os fungos *Candida utilis* e *Pleurotus ostreatus var.roseus* isolados e combinados. O tratamento combinado com os dois fungos proporcionou um enriquecimento, em mais de 100%, do teor de proteína do resíduo de maçã.

“O maior problema da utilização de alimentos ricos em proteínas é o seu elevado custo. Uma vez que o produtor possa enriquecer com proteína as forragens que dispõem em sua propriedade, os custos da alimentação protéica diminuirão, pois não haverá despesas com transporte de ração e estará utilizando apenas material produzido em sua fazenda” (PERAZZO NETO, 1999).

Segundo HOLANDA *et al.* (1998) o desperdício de pedúnculo do caju na Região Nordeste é superior a 940 mil toneladas/ano, que enriquecido proteicamente poderá ser importante para utilização como ração animal. Os autores comentam ainda que a quantidade desperdiçada (94 a 98%) representa um elevado potencial de uso para conversão protéica por microrganismos, pois contendo menos de 7% de proteína na base seca, na sua composição existe cerca de 10% de carboidratos que podem ser metabolizados como fonte de energia para reações de biossínteses. Após o enriquecimento protéico através da utilização da levedura cuja espécie utilizada foi a *Saccharomyces cerevisiae* com uma inoculação de até 10% na pasta úmida do caju (suco + bagaço) e períodos de fermentação de até 72 horas, concluíram que o tempo ideal para a fermentação foi de 24 horas e proporcionou um teor protéico acima de 20% no material fermentado, viabilizando um concentrado protéico similar à torta de algodão.

Já CAMPOS *et al.* (2003) estudaram o enriquecimento protéico utilizando apenas o bagaço do pedúnculo do caju por fermentação semi-sólida. O suco foi utilizado para produção de vinho de caju. Foi verificado que o tempo de fermentação necessário para a máxima conversão dos carboidratos solúveis do bagaço foi em torno de 24 horas, corroborando com o trabalho de HOLANDA *et al.* (1998). Obtiveram aumento protéico, depois do processo fermentativo, de 2,5 vezes o bagaço “in natura”.

ARAÚJO *et al.* (2003) estudando o enriquecimento protéico do mandacaru sem espinhos (*Cereus Jamacaru P.DC*) utilizando a *Saccharomyces cerevisiae* por fermentação semi-sólida verificaram que após 48 horas houve um aumento

no teor protéico do fermentativo mais de três vezes. Foi utilizada bandeja perfurada, onde foi colocado o substrato e o microrganismo, nas proporções de 5 e 10% em relação ao peso do substrato, em uma temperatura de 38^o C.

Segundo DURAN (1989), a produção de grande quantidade de células ricas em proteínas, denominadas SCP ("Single Cell Protein"), é realizada pelas bactérias, fungos e algas. Ainda o mesmo autor afirma que a produção de SCP é empregada em processos tecnologicamente intensivos que permitem alta produção volumétrica de proteínas. A produção desse tipo de proteínas é independente de efeitos climáticos e alterações ambientais. Entretanto, tais processos requerem investimentos substanciais de capital e devem ser operados com a máxima eficiência.

RAIMBAULT *et al.* (1977) apresentam os resultados de diversas matérias-primas (% de matéria seca) antes e após o enriquecimento protéico através do microrganismo *Aspergillus niger*. Na Tabela 2.2 os autores confirmam que esta técnica tem alcançado bastante êxito com muitos outros fungos filamentosos usados especialmente nos países asiáticos para o consumo humano, como o *Aspergillus awamori*, *Aspergillus oryzae*, dentre outros.

Tabela.2.2 Enriquecimento protéico de diversas matérias-primas (% de matéria seca)

Material	Composição inicial		Composição final	
	Proteínas	Carboidratos	Proteínas	Carboidratos
Farinha de mandioca	2,5	90	18	30
Banana	6,4	80	20	25
Desperdícios de banana	6,5	72	17	33
Batatas	5	90	20	35
Desperdícios de batata	5	65	18	28

Fonte: RAIMBAULT *et al.* (1977)

Destacam-se dentre outros, os seguintes substratos utilizados para obtenção do enriquecimento protéico através de microrganismos: resíduos de bananas, farinha e resíduos sólidos do processamento de mandioca, espiga de milho, cana-de-açúcar, bagaço de cana, bagaço de maçã, melão, vinhaça, farelo

e palha de trigo, grão-de-bico, polpa de café, arroz cozido, casca de limão, laranja, rejeito da fabricação de polpa congelada de acerola, maracujá, abacaxi, goiaba e morango. Estes representam no Brasil, matéria-prima abundante de baixo custo (TRINDADE, 1996; DEL BIANCHI, 2001).

2.1.2 Técnicas Utilizadas para Aumentar o Teor de Proteínas na Palma Forrageira

Existem algumas técnicas para aumentar o teor de proteína da palma forrageira, reduzindo-se assim, a necessidade de administrar suplementos protéicos. A primeira maneira é o uso de fertilizantes de N e de P (FELKER, 1992). GONZALEZ (1989), em seu estudo verificou que o teor de proteína aumentava de 4,5% para 10,5% no caso de tratamento com 224Kg de N e 112Kg de P por hectare.

FELKER (1992), cita que a segunda maneira de aumentar o teor protéico da palma forrageira é através da inoculação de suas raízes com bactérias de associação livre e fixadoras de nitrogênio, como a *Azospirillum*, afirmou ainda que a inoculação com essa bactéria resultou num aumento de 34% do peso seco e 63% no teor de N das raízes da palma forrageira.

TABOSA (2003), cita a terceira técnica de aumentar o valor da proteína da palma forrageira através do uso da uréia pecuária, fazendo um trabalho espelhado na fermentação da cana-de-açúcar, adaptando para a mesma. De princípio adquire-se um material rico em açúcar ou rico em carboidrato, como é o caso da palma forrageira, e a transforma em farelo enriquecido. Conseguiu-se em torno de 20% de proteína bruta e em torno de 8 a 10% de proteína verdadeira.

A quarta técnica utilizada para aumentar o teor protéico da palma forrageira é através de processos biotecnológicos, utilizando microrganismos (bioconversão). Segundo PERAZZO NETO (1999), avaliando a viabilidade do enriquecimento protéico da palma forrageira *Opuntia ficus-índica* Mill com *Aspergillus niger* IA UFPE 2003, verificando a análise bromatológica notou que houve aumentos significativos dos parâmetros na preparação enriquecida em comparação com a palma forrageira "in natura" ou adicionada de 1 a 2% de uréia na base úmida. Concluiu que a palma enriquecida com o *Aspergillus niger* apresentou teores de proteína verdadeira em torno de 15% a 21%, conferindo a

viabilidade do enriquecimento protéico na palma forrageira uma vez que a mesma apresenta em torno de 7% de PB na forma “in natura”.

CARVALHO (1999), trabalhando com a influência do cultivo dos fungos *Aspergillus niger* e *Fusarium oxysporum* sobre a composição química da palma forrageira, observou que o fator limitante do crescimento destes fungos, foi devido à ausência de nitrogênio na palma. Os resultados obtidos para proteína verdadeira e proteína bruta com o cultivo de *Aspergillus niger* e *Fusarium* foram em média de 2,8 e 3,4% de PV e 4,9 e 4,8% de PB, respectivamente.

2.2 Fermentação Semi-sólida

2.2.1 Definição

Na fermentação semi-sólida (FSS), o meio de cultura é composto de substratos sólidos, com um determinado teor de umidade. Assim a água torna-se um fator limitante do processo, o que não ocorre na fermentação líquida, onde há abundância de fase aquosa, ANDRADE (1999).

De acordo com DURAN (1989), a fermentação em estado semi-sólido é definida como um sistema com matriz de partículas sólidas, uma fase líquida entre elas e uma fase gasosa entre as mesmas. Já HESSELTINE (1972), define a fermentação semi-sólida como sendo um processo que envolve o crescimento de microrganismos em sólido umedecido, na ausência de água livre. A umidade necessária existe sob forma absorvida ou complexa na matriz sólida.

2.2.2 Vantagens e Desvantagens da Fermentação Semi-sólida

De acordo com MURTHY *et al.* 1993 e DEL BIANCHI *et al.* 2001 estão relatadas as vantagens e desvantagens da FSS, quando comparada com a submersa (FSm). O processo em estado semi-sólido apresenta as seguintes vantagens operacionais em relação ao submerso; está na maior produtividade do primeiro processo devido à adição de um pequeno volume de água, permitindo a recuperação do produto com baixos gastos de energia; a baixa umidade requerida para obter-se um rendimento máximo de produto; o espaço requerido pelo reator ou fermentador é pequeno em relação ao rendimento do produto, pois, o substrato é concentrado devido à baixa quantidade de água utilizada; os produtos

desejados podem ser extraídos diretamente do fermentado adicionando-se solventes; não são necessários tanques de germinação, já que os esporos são adicionados diretamente na fermentação; as necessidades de energia são reduzidas, uma vez que não são necessárias as operações das etapas de agitação e aeração do meio de cultura, para concentração do produto final; é importante ressaltar que há necessidade de pouco controle do processo; a difusão de enzimas é facilitada pela estrutura porosa do substrato, quanto maior a porosidade, maior a degradação ocorrida em todo meio; a aplicação comercial da FSS pode ser dividida em dois tipos: sócio-econômicas como a compostagem de resíduos e enriquecimento dos solos e de fins lucrativos como a produção de enzimas, ácidos orgânicos e alimentos fermentados. Dentre as desvantagens destacam-se; se a porosidade do substrato for baixa, a difusão de enzima será dificultada e a degradação só ocorrerá na superfície do substrato; vários aspectos do crescimento fúngico e da produção enzimática afetam a transferência de massa, oxigênio e substrato; na FSS, a distribuição é heterogênea, marcando uma sensível diferença em relação aos padrões normais de difusão de nutrientes, água e oxigênio; grande parte do substrato é insolúvel em água, enquanto que o microrganismo pode utilizar somente o substrato solúvel em água, para crescer; o substrato deve conter partículas adequadas para aumentar a transferência de massa, uma vez que a transferência de oxigênio e nutrientes afeta o crescimento dos microrganismos; a quantidade de inóculo e esporos é relativamente elevada; Há uma influência dos fatores físicos dos substratos no crescimento microbiano na FSS que são o tamanho e forma das partículas, porosidade, razão superfície/massa e cristalinidade; níveis de umidade inferior a 12% podem reduzir a atividade biológica dos microrganismos; são necessários conhecimentos técnicos, fisiológicos e bioquímicos para produção em larga escala.

2.2.3 Breve Histórico da Fermentação Semi-sólida

A fermentação em meio semi-sólido vem sendo utilizada desde a antiguidade. O uso do molho de soja na China é reportado desde 3000 a.C e no Japão e sudoeste da Ásia desde 1000 a.C. A produção de pão é relatada desde 2600 a.C. pelos Egípcios e a de queijo pelo *Penicillium roqueforti* desde 1000 a.C. A partir de 1900 d.C. começou a ser utilizada para a produção de enzimas

fúngicas, ácidos glucônico e láctico. Na década de 1960, foram realizados os primeiros estudos sobre enriquecimento protéico de alimentos (PANDEY *et al.*, 1992).

De acordo com CROOKE (1991), os processos de fermentação em meio semi-sólido são mais utilizados tradicionalmente no Oriente. Durante a segunda Guerra Mundial, houve um maior desenvolvimento biotecnológico com a fermentação em meio líquido, com produtos de fermentação com aplicações bélicas (acetona, butanol, etc.) e se fortaleceu com as indústrias de antibióticos.

Observando a história da tecnologia da fermentação, PANDEY (2002), relata que o processo de fermentação semi-sólida (FSS) foi quase que completamente ignorado em países ocidentais depois de 1940, devido à adaptação da tecnologia de fermentação submersa (FSm). Desde o desenvolvimento da penicilina durante a segunda Guerra Mundial no Ocidente, a fermentação submersa tornou-se um modelo de tecnologia de produção de qualquer composto por fermentação. Ainda grupos de pesquisas isolados continuaram em sistemas de FSS e durante 1950 a 1960, a transformação de esteróides foi apresentada usando cultura de fungos. O estudo da fermentação semi-sólida, no mundo Ocidental, continuou embora lentamente, e atingiu o marco durante 1960 - 1970, quando reportado a produção de micotoxinas por FSS. A produção de meios enriquecidos proteicamente para alimentação bovina foi a próxima atividade mais reportada, na qual envolveu a utilização de resíduos agro-industriais, oferecendo assim, um desenvolvimento de processo único para aumentar o valor agregado destes, com baixo custo. Esta foi uma das áreas na qual gerou-se interesse de pesquisa no mundo em FSS. Desde então, têm-se aumentado os estudos da utilização dos processos de FSS que melhorou consideravelmente na última década.

Em geral, muitos aspectos importantes devem ser considerados para o desenvolvimento de qualquer bioprocessos em FSS. Estes incluem a seleção adequada de microrganismos e substratos e otimização dos parâmetros do processo. Pela classificação teórica baseada na atividade de água, praticamente fungos filamentosos e leveduras foram tomados como microrganismos adequados para FSS. Acha-se que devido à necessidade de baixa atividade de água requerida no processo.

Segundo NARAYANA (2003), hoje, com um melhor desenvolvimento da

engenharia bioquímica, particularmente em modelagem matemática e projeto de biorreatores, é possível um “scale up” de processos de FSS para uma posterior comercialização. Portanto, a FSS tem surgido como um potencial tecnológico para a produção de produtos microbianos tais como: alimentos, combustíveis, indústrias químicas e produtos farmacêuticos, substituindo gradativamente o processo de FSm.

2.3 Controle do Processo

Segundo DEL BIANCHI *et al.* 2001 e PANDEY 2002, em todo processo fermentativo, o controle de determinar as variações se faz necessário para a obtenção de produtos com características constantes e uniformes. Um assunto relevante é a seleção de parâmetros do processo e sua otimização. Estes incluem parâmetros físico-químicos e bioquímicos, assim como pré-tratamento do substrato, umidade e atividade de água, tamanho das partículas, inoculação, agitação, aeração, tamanho do inóculo, temperatura, espessura da camada, pH, suplementação de nutrientes como N, P e outros minerais, suplementação adicional de fonte de carbono e indutores, extração do produto e sua purificação. Dependendo do tipo, nível e aplicação do experimento, métodos de otimização de univariável ou multivariável devem ser usados para realização do processo.

2.3.1 Pré-tratamento

DEL BIANCHI *et al.* (2001) afirmam que o substrato necessita de um pré-tratamento para se adequar às condições necessárias ao crescimento e metabolismos dos microrganismos. Recomendam os seguintes processos para facilitar a atuação dos microrganismos sobre o meio:

- 1- Esmagamento, quebra, moagem e peneiramento visando adequar o meio a granulometria mais adequada ao processo;
- 2 - Suplementação de nutrientes e correção de pH, para suprir a falta de algum nutriente ou adequar as melhores condições de crescimento microbiano;
- 3 - Hidrólise ácida ou alcalina de material celulósico, visando facilitar a atuação enzimática;
- 4 - Embebição, para regular o teor de umidade inicial do processo;

5- Vaporização ou aquecimento, visando a gelatinização ou expansão de substrato;

6 - Adição de agente seqüestrante, com o objetivo de retirar íons metálicos do meio, que podem diminuir o rendimento do processo;

7 - Processo de esterilização, que visa a diminuição ou eliminação de possíveis contaminações.

2.3.2 Umidade e Atividade de Água

2.3.2.1 Definição

A diferença entre umidade e a presença de atividade de água num produto pode ser evidenciada através de uma força motriz, presente no produto, que proporciona o transporte da água livre de um ponto de atividade de água mais intensa para outro ponto em que a atividade de água seja reduzida, embora ambos os pontos encontrem-se com igual teor de umidade (que representa a água total = água combinada + água livre). Quando não existe água livre, a medida é de $a_w = 0,0$, porém se a amostra é constituída em sua totalidade por água pura, então a $a_w = 1,0$. Portanto as medições de a_w (atividade de água) dos produtos serão compreendidas entre 0,0 e 1,0.

A atividade de água indica o nível de água em sua forma livre no material e a água ligada não está comprometida com a matéria seca do substrato, não estando disponível para processos químicos ou microbianos. Em um espaço contendo um material e uma parcela pequena de ar, pode-se relacionar a umidade deste alimento com a quantidade de água presente no mesmo. Logo, a atividade de água nada mais é que a equivalente umidade neste espaço fechado, mas não é indicado de 0 a 100% de umidade relativa mas sim de 0 a 1. Considera-se 0 (zero) para materiais livres de água e 1 para a água em sua forma líquida. A a_w é dependente da temperatura, sendo necessário indicar sempre a temperatura de referência SANTIN, (1996).

Na fermentação semi-sólida o teor de umidade de um substrato é parâmetro determinante para o desenvolvimento de microrganismos. Existem técnicas empregadas como a desidratação, a adição de sal ou a adição de açúcar a fim de reduzir a água disponível nos alimentos impedindo a sua deterioração

pelo desenvolvimento de microrganismos.

2.3.2.2 Influência do Teor de Umidade na Fermentação em Meio Semi-sólido

CASTILHO (1977), estudaram a influência do teor de umidade inicial do substrato na produção de pectinases por *Aspergillus niger* e observaram que houve um limite de umidade para síntese de pectinases. Acima de 40% a sua produção foi reduzida e com teor de 25% praticamente não houve crescimento celular.

O teor de umidade do substrato é um dos principais parâmetros que influenciam o sucesso de uma fermentação semi-sólida, pode variar de 18 a 85%, sendo ele estipulado em função do poder de absorção do substrato.

Assim, se o nível de umidade for elevado, implicará no decréscimo de porosidade do substrato, resultando em menor difusão do oxigênio no interior do meio causando decréscimo de trocas gasosas, aumentando o risco de contaminação bacteriana.

Para níveis de umidade menores que o necessitado, haverá maior dificuldade na difusão de nutrientes, resultando em um crescimento do microrganismo menor do que o possível e esperado, conseqüentemente, com menor formação do produto desejado, portanto um teor de umidade abaixo de 12%, não há desenvolvimento microbiano (DEL BIANCHI *et al.*, 2001)

As cactáceas estão incluídas no grupo de materiais higroscópicos, isto é, materiais capazes de absorver, reter ou eliminar água que procuram sempre estabelecer um equilíbrio de umidade com o ar em seu redor. A água causa sempre um aumento da pressão de vapor sobre a superfície das mesmas. Quando esta pressão e a pressão de vapor de água da atmosfera é igual há um equilíbrio de umidade.

2.3.2.3 Influência da Atividade de Água na Fermentação em Meio Semi-sólido

GERVAIS e MOLIN, (2001) estudando a função da água em meio semi-

sólido, verificaram que a atividade de água, tem sido um parâmetro extremamente usado como um critério preditivo das funções fisiológicas dos microrganismos e desta forma, da preservação dos alimentos. Nos últimos anos, a utilização sistemática deste parâmetro tem sido debatida por especialistas para qualificar a situação da água em um meio. Para estes autores, as condições termodinâmicas são insuficientes para explicar o efeito da água nos meios, portanto, parâmetros cinéticos devem também ser incluídos. Portanto, a influência dos parâmetros cinéticos e termodinâmicos em fermentação semi-sólida deve ser investigada.

O valor da atividade de água (a_w) fornece uma indicação segura do teor de água livre do alimento sendo esta a única forma de água possível de utilização por parte dos microrganismos. A medição da atividade de água é a melhor medida da concentração de água, em termos de propriedades físico-químicas, ou seja, o teor de água livre (SANTIN, 1996; GOUVEIA, 1999; ANDRADE, 1999; ALTIDES, 2002).

2.3.2.4 Atividade da Água com Relação ao Crescimento dos Microrganismos

SANTIN (1996), afirma que o crescimento dos microrganismos depende da a_w , em razão da influência da pressão osmótica sobre as trocas através das membranas. O intervalo da a_w no qual são observados os desenvolvimentos microbianos varia de 0,6 a 0,99. Em geral o valor ótimo da a_w para o crescimento se situa entre 0,9 e 0,99. Abaixo deste ótimo, o crescimento é moderado, retardado ou inibido. Assim, todo microrganismo é caracterizado por um valor de a_w mínimo, abaixo do qual não pode mais se desenvolver.

Segundo CATÃO (1999), dentre os atributos que permitem o crescimento de microrganismos agindo na destruição de produtos agrícolas, incluem a habilidade para: crescer em níveis de atividade de água (a_w), dentro de uma faixa de 0,65 a 0,95 ou acima.

Corroborando, SILVA (2003) destaca que os bolores necessitam menos a_w que as leveduras e estas menos que as bactérias. A atividade de água menor que 0,70 inibe o crescimento da maioria dos bolores que causam a deterioração de

alimentos. Os microrganismos bactérias, leveduras e bolores, necessitam para o seu crescimento no mínimo de atividade de água dos respectivos valores: 0,91; 0,88 e 0,80.

Para PANDEY (2002), a atividade de água do substrato tem influência determinante na atividade microbiana. Em geral, as espécies de microrganismos que podem crescer em sistema de FSS são determinadas por a_w . A a_w do meio tem sido atribuída como um parâmetro fundamental para transferência de massa de água e solutos para as células microbianas. O controle deste parâmetro pode ser usado para modificar a produção metabólica ou excreção de um microrganismo.

A a_w influencia também a produção de aromas em queijos, onde o ponto ótimo de produção situa-se na faixa de $a_w = 0,98$. Para o enriquecimento protéico de resíduos de batata – doce com leveduras amilolíticas, indicam valores de $a_w = 0,98$ a $0,99$ (DEL BIANCHI *et al.*, 2001; YANG, 1989).

2.3.2.5 Isoterma de Sorção

A apresentação das isotermas de sorção é feita através de gráficos da dependência da atividade de água em relação ao conteúdo de umidade da matéria orgânica a temperaturas e pressões definidas. Geralmente são determinadas experimentalmente. As isotermas podem ser de adsorção ou de dessorção, conforme tenha sido feita a determinação da umidade do produto, seja ao longo de um processo de umedecimento ou de secagem.

As isotermas de sorção, permitem a determinação do valor da monocamada de água ligada no alimento. De acordo com estudos realizados não se deve retirar água em quantidade inferior a monocamada, pois parece ser este o limite abaixo do qual se inicie uma série de reações químicas indesejáveis no alimento, além de representar a região a partir da qual haveria um dispêndio maior de energia para a eliminação da água residual do alimento (DURAN e HENNIS, 1996; ISSE *et al.*, 1993; SANTIN, 1996; GOUVEIA, 1999).

AGUIERRE *et al.*, (1997), definem isoterma de sorção como a expressão gráfica da relação funcional existente entre o conteúdo da umidade (X_{bs}) de uma substância e a atividade de água (a_w) da mesma substância, medidas a uma temperatura constante. Ela permite o conhecimento do conteúdo de umidade de

equilíbrio do substrato que se encontra exposto a um ambiente de umidade relativa e temperatura conhecida.

2.3.2.6 Modelos matemáticos para ajuste das isotermas

Para ajustar os dados experimentais das isotermas é necessário utilizar modelos matemáticos e assim fazer a correspondência entre teor de umidade do produto analisado (X_{bs}) e atividade de água (a_w) sendo possível fazer extrapolação até regiões de difícil determinação experimental. Fornecendo informações importantes sobre o fenômeno de sorção, tais como a água absorvida na monocamada molecular ou o calor de sorção para as camadas subseqüentes.

Existem vários modelos matemáticos, dentre eles os mais difundidos são: modelo de BET, GAB e HANDERSON.

2.3.2.7 Modelo de BET

Equação de BET (BRUNAUER - EMMER – TELLER, 1938) é o modelo mais conhecido e usado, fornecendo um bom ajuste aos parâmetros, X_m , C_{BET} e n tem sido usado com sucesso para atividade de água até valores em torno de 0,5 (PARK e NOGUEIRA, 1992). O modelo tem sido utilizado para uma grande variedade de alimentos situados nos intervalos correspondentes a $0,05 < a_w < 0,6$, sendo expressa pela Equação 2.1.

$$\frac{X_{bs}}{X_m} = \frac{C a_w}{1 - a_w} = \left\{ \frac{1 - (n+1)a_w^n + n a_w^{n+1}}{1 - (1-C)a_w - C a_w^{n+1}} \right\} \quad (2.1)$$

Onde:

A_w = atividade de água;

C_{BET} = constante de BET;

T = Temperatura;

X_{bs} = Conteúdo de umidade de equilíbrio expressa em base seca;

X_m = conteúdo de umidade na monocamada molecular;

n = número de camadas moleculares.

2.3.2.8 Equação de GAB

A equação de GAB (GUGGENHEIM – ANDERSON – de BOER) de três parâmetros é um reforço das teorias de BET e LANGMUIR. Tem sido sugerida por muitos pesquisadores, a mesma está sendo utilizada em vários laboratórios de alimentos nos EUA e na comunidade Européia como padrão de descrição e comparação de isotermas (LOMAURO et al., 1984; BIZOT, 1985). O modelo de GAB é expressa pela Equação 2.2.

$$\frac{X_e}{X_m} = \frac{a_w \cdot C_{GAB} \cdot K_{GAB}}{(1 - K_{GAB} \cdot a_w)(1 - K_{GAB} \cdot a_w + C_{GAB} \cdot K_{GAB} \cdot a_w)} \quad (2.2)$$

Onde:

a_w = atividade de água;

C_{GAB} = é a constante de GAB;

K_{GAB} = constante de GAB;

X_{bs} = conteúdo de umidade de equilíbrio expresso na matéria seca;

X_m = conteúdo de umidade na monocamada.

Em que C_{GAB} e K_{GAB} são as constantes de adsorção, relacionadas com as interações energéticas entre as moléculas da monocamada e as subseqüentes, em um dado sítio de sorção. Observa-se no modelo que quando K_{GAB} for igual a umidade, esta equação se reduz a equação de BET com dois parâmetros.

2.3.3 Granulometria

O tamanho da partícula influencia nas operações do processo. Se por um lado, quanto menor o tamanho, maior a área superficial e conseqüentemente, maior o grau de transformações, por outro lado o processo necessita ter uma granulometria adequada visando permitir a circulação do ar por entre a massa e a dissipação de gases e calor produzidos, os quais podem vir a prejudicar o rendimento do processo (DEL BIANCHI *et al.*, 2001).

RAIMBAULT *et al.* (1977) detectaram que na preparação de substratos de diversas matérias-primas (farinha de mandioca, bananas, desperdícios de bananas, batatas e desperdícios de batatas), destinados a fermentação em meio

semi-sólido, com agitação mecânica, os mesmos depois de inóculo natural, tomou a forma de grânulos bem separados e uniformes de uns 2-3mm de diâmetro.

PANDEY (1994) preparou uma mistura de farelo de trigo com farinha de milho (a uma proporção de 9:1) formando um substrato, o qual apresentava partículas com diâmetros entre 425-500µm respectivamente, proporcionando uma maior produção de amiloglicose.

ECHEVARRIA *et al.* (1991) realizaram um estudo sobre o enriquecimento protéico de cana-de-açúcar, através do microrganismo *Aspergillus niger*, onde o substrato utilizado era composto de partículas de 1,4mm, proporcionando um bom rendimento do produto fermentado.

BUDIATMAN e LONSANE (1987) utilizaram resíduo fibroso do processamento de mandioca com diâmetro entre 3,0 e 5,0mm para a produção de pectinase. Os mesmos autores concluíram em seus estudos que na porosidade, a principal qualidade desta característica é a capacidade de absorção de água, que facilita o transporte de enzimas e metabólitos entre o meio e os microrganismos.

2.3.4 Temperatura

Devido às atividades metabólicas dos microrganismos e dependendo da espessura da camada do substrato, uma grande quantidade de calor pode ser acumulada durante o processo fermentativo.

Como os demais parâmetros, a temperatura apresenta uma forte influência no crescimento microbiano, havendo uma temperatura mínima, abaixo da qual o microrganismo não cresce, uma temperatura ótima na qual o crescimento é máximo e uma temperatura máxima acima da qual não ocorre crescimento. Em processo fermentativo há a necessidade de observar a temperatura para que a mesma não se eleve demais prejudicando o processo.

Segundo PANDEY (2002), a temperatura do substrato é também muito crítica em FSS, influenciando no crescimento do microrganismo, na formação e germinação de esporos, assim como na formação de produtos.

DEL BIANCHI *et al.*, (2001) apresentam a taxa de produção de proteínas de *Aspergillus niger* em relação à temperatura empregada no processo.

Observaram que a temperatura de 40°C apresentou menor tempo e na temperatura à 35°C obteve maiores valores de produção de proteína. Já com a temperatura equivalente a 45°C houve uma perda sensível na eficiência do processo.

BRITES *et al.* (2001), verificando a importância do efeito da temperatura na recuperação da amiloglicosidase de *Aspergillus niger*, concluíram que o maior coeficiente de partição da enzima em estudo foi obtido com uma temperatura correspondente a 25°C.

2.3.5 pH

O controle do pH durante a fermentação em estado sólido, embora este seja um dos parâmetros mais críticos, dificilmente será conseguido devido a heterogeneidade e a consistência do material. Como tentativa de amenizar o efeito de uma variação brusca do potencial hidrogeniônico, utilizam-se substratos com boa capacidade tamponante ou a adição de soluções-tampão durante a etapa de umidificação do substrato (DEL BIANCHI *et al.*, 2001).

Ainda o mesmo autor afirma que pH é uma variável importante em qualquer processo biológico, havendo valores de pH mínimo, ótimo e máximo para o desenvolvimento de cada microrganismo. Geralmente os fungos preferem pH baixo (4,5 – 5,0) e as bactérias pH próximos da neutralidade (6,5 – 7,5). Vários trabalhos têm sido realizados em busca de determinar o pH ideal para o processo desejado, uma vez que nos processos fermentativos em substrato sólido, há um pH específico para cada microrganismo e para cada produto a ser formado.

HOLANDA *et al.* (1998) enriquecendo proteicamente o pedúnculo do caju por meio de desenvolvimento de leveduras, concluíram que maior atenção deve ser dada ao pH nas massas de caju, pois ao acentuar-se pH menor do que 3,5 poderá causar prejuízos, conseqüentemente redução da eficiência de conversão protéica da levedura, embora o elevado índice de acidez previna a contaminação do meio por microrganismos como bactérias.

CASTILHO (1977), trabalhando com o enriquecimento protéico de polpa de frutas relataram que os valores de pH ótimo de algumas enzimas de *Aspergillus niger* são bastantes baixos (pH = 4) o que viabiliza o seu longo emprego no processamento de frutas.

BRITES *et al.*, (2001), estudando a recuperação da amiloglicosidase de *Aspergillus niger*, em meio semi-sólido, montou um sistema para observar o efeito do pH, consistindo em diluir a enzima nas soluções tampão com pHs variando entre 6,5 e 9,0. Confirmaram que o maior coeficiente de partição da enzima foi obtido com pH = 8,0.

ANGELIS (1986), afirma que as leveduras resistem bem a grande variação de pH desde a faixa do pH alcalino até aproximadamente pH = 2,5, como é o caso da *Saccharomyces cerevisiae* (levedura de panificação).

2.3.6 Espessura da Camada

DEL BIANCHI *et al.* (2001) relata que há diferentes maneiras para se obter uma movimentação do ar por entre o substrato, permitindo assim uma melhor transferência de oxigênio, quer seja pela utilização do material poroso mediamente granulado ou fibroso pelo uso de pequena espessura da camada de substrato. Ainda o mesmo autor, confirma que a quantidade de ar estéril a ser introduzido no processo fermentativo além de depender da natureza dos microrganismos depende também da espessura da camada de substrato dentre outros parâmetros.

PERAZZO NETO (1999) concluiu que a espessura da camada do meio de 1,0cm foi a mais indicada para ser utilizada no enriquecimento protéico da palma e algaroba por *Aspergillus niger*.

2.3.7 Inóculo

MUDGETT citado por PERAZZO NETO (1999), ressalta a necessidade de se otimizar a concentração de inóculo para as fermentações em substratos sólidos, afirmando que uma concentração baixa de inóculo pode favorecer o desenvolvimento de contaminantes e formar pouca biomassa. Já um inóculo com elevada concentração de esporos pode exaurir o meio para a formação de biomassa, reduzindo a quantidade do produto que se deseja obter. O mesmo autor ainda ressalta que caso deseje a produção de biomassa é recomendado o emprego de inóculo elevado para evitar contaminantes, porém deve-se ter o cuidado para não se elevar muito o custo de produção com a preparação do

inóculo.

Para obtenção de ácido cítrico por fermentação semi-sólida, o microrganismo utilizado para esta produção foi em todos os estudos, o *Aspergillus niger*. Inoculando-se com uma suspensão de $2,0 \times 10^6$ esporos/g meio, após 4 a 6 dias, obteve-se uma conversão de 80% (BIANCHI et al., 2001). Os mesmos autores realizando produção de antibióticos como a penicilina, introduzindo no processo um inóculo com $5,0 \times 10^6$ esporos por grama de meio, durante um período de 46 horas.

PERAZZO NETO (1999) utilizou no enriquecimento protéico da algaroba (*Prosopis juliflora*) e palma forrageira (*Opuntia ficus-índica* Mill) uma suspensão de esporos do *Aspergillus niger* IA-UFPE 2003 em água destilada, de forma que a concentração foi de $\pm 10^5$ esporos/ml. Cada quilo de matéria-prima triturado foi inoculado com 300ml da suspensão de esporos, correspondendo a $\pm 10^7$ esporos por kg de matéria-prima.

VILAS BÔAS e ESPOSITO (2001) fazendo o enriquecimento protéico do bagaço de maçã utilizaram um pré-inóculo da levedura cultivada em meio YM (Yeast Malt) e foram empregados 10 % desse pré-inóculo para a etapa de fermentação do substrato em estado líquido. Já para a fermentação em estado sólido com essa mesma quantidade de inóculo foi utilizado o fungo *Pleurotus ostreatus var roseus*, uma vez que ele aumenta a digestibilidade por ser capaz de degradar fibras o que as leveduras não.

De acordo com RODRIGUES (2001), o efeito do cloreto de sódio na produção de proteínas da polpa de caju utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* em fermentação em meio semi-sólido, utilizou um inóculo de 3,6mg de batatas úmidas. A massa inicial de substrato (mistura de batatas cozidas, enzimas e meio de cultura) foi de $\pm 10g$.

Segundo NARAYANA et al. (2003), a otimização de parâmetros do processo para produção de Cefalosporina C., utilizou vários inóculos (5, 10, 20, 30, 40 e 50%) para estudar seus efeitos na produção de antibióticos. O melhor nível obtido pelo inóculo foi o de 10%, para produção de Cefalosporina C.

2.3.8 Fontes de Nitrogênio e Carbono

A capacidade de utilização das fontes de carbono e nitrogênio está

intimamente ligada ao conjunto enzimático, que é específico para cada espécie microbiana. Assim, há microrganismos que possuem capacidade de utilizar compostos complexos de carbono e nitrogênio, como amido e proteínas, respectivamente, e outros que só utilizam substâncias simples tais como açúcares e uréia, com fontes de carbono e nitrogênio, respectivamente.

CARVALHO (1999), estudando a influência do cultivo dos fungos *Aspergillus niger* e *Fusarium oxysporum* sobre a composição química da palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill), utilizou como fonte nitrogenada a uréia. Observou-se que a fonte nitrogenada, proporcionou aos fungos condições favoráveis ao desenvolvimento uniforme da massa fúngica e a transformação do nitrogênio não protéico com proteína verdadeira (PV), com a obtenção dos valores estimados de PV de 6,30 e 6,94 para os tratamentos *Fusarium* + uréia e *Aspergillus* + uréia, respectivamente.

Segundo PERAZZO NETO (1999), a influência da adição de uréia no enriquecimento protéico da algaroba e palma forrageira, concluiu que a adição da mesma ao meio proporcionou aumento do teor de proteína da palma.

De acordo com CATÃO (1999) normalmente os carboidratos são as principais fontes de carbono acessíveis aos fungos; são metabolizados proporcionando energia, atuando também como precursores na síntese do material celular. Outras fontes de carbono utilizadas pelos fungos incluem álcool, hidrocarboneto. Utilizam também nitrogênio sob a forma de amônia, embora quase todos utilizem nitrato.

DURAN (1989) relata que a fonte de carbono representa 40 a 59% do custo de produção de SCP (proteínas microbianas). Por esta razão, tem sido de grande interesse o uso de fontes alternativas de carbono que estejam mais disponíveis e mais viáveis economicamente.

2.4 Matérias-Primas

2.4.1 Microrganismos

Os fungos são organismos eucarióticos que, como as algas, têm parede celular rígida e podem ser unicelulares ou multicelulares. Alguns podem ser microscópicos, enquanto outros são maiores, como os cogumelos que crescem

em madeira úmida ou solo. Diferentemente das algas, os fungos são desprovidos de clorofila e portanto, não realiza fotossíntese. Os fungos não ingerem alimentos, mas devem absorver os nutrientes dissolvidos no ambiente. Entre os fungos classificados como microrganismos estão aqueles que são multicelulares, produzem estruturas filamentosas, microscópicas e são freqüentemente chamados de bolores, enquanto as leveduras são fungos unicelulares. (PELCZAR, 1996).

2.4.1.1 Descrição das Leveduras

As leveduras são seres heterotróficos, dependem para seu desenvolvimento de carbono orgânico, e assumem elevada preferência pelos carboidratos especialmente os monossacarídeos, ANGELIS (1986).

As leveduras constituem um ramo menor dos fungos quanto ao número de espécie (350 espécies agrupadas em 39 gêneros). Entretanto elas são muito importantes por suas atividades bioquímicas. Algumas realizam fermentação utilizada desde as origens da civilização (fermentação alcoólica). Estas atividades têm aplicações industriais muito importantes (SCRIBAN *et al.*, 1982).

Segundo PARK e RAMIREZ (1989), as leveduras de panificação *Saccharomyces cerevisiae* são organismos atrativos para a produção comercial de proteína em virtude de fácil propagação e de não terem relação patogênica com o homem. A eficiência da conversão protéica por leveduras depende de fatores como temperatura, suprimento de oxigênio e disponibilidade de nutrientes e o tempo médio para dobrar o teor de proteína é de 5 horas em sistemas de fermentação por batelada.

Segundo ROCHA (2002) a levedura é o mais utilizado microrganismo na indústria. Tecnicamente é chamada de levedura sendo a mais conhecida cientificamente a *Saccharomyces cerevisiae*. Espécies deste tipo são organismos microscópicos de célula única, viva e tem as mesmas funções de qualquer outro ser vivo, respira, se alimenta, excreta, dentre outras funções vitais. As leveduras apresentam membrana celular bem definida, pouco espessa, em células jovens, rígidas em células adultas de constituição variável, com predominância de hidratos de carbono, menor quantidade de proteínas e graxas. Geralmente a levedura se reproduz de forma assexuada chamada gemulação ou brotamento, também sendo chamada de reprodução vegetativa. É um processo onde a

levedura duplica o material de seu interior e se divide em duas.

2.4.1.2 Características Morfológicas e Fisiológicas da Levedura

As leveduras apresentam tamanho que varia de 2,5 a 10,5 μm de largura e de 4,5 a 21 μm de comprimento. Sua forma também é muito variável, indo desde de elementos esféricos até células elípticas bastante alongadas, quase filamentosas. Suas células apresentam características dos seres eucarióticos, possuindo uma estrutura celular altamente organizada. Tem membrana citoplasmática lipoprotéica, cuja principal função é regular as trocas com o meio ambiente. Possuem também, uma parede célula rígida, constituída principalmente de dois polissacarídeos: manana e glucana; além disso, contém proteínas e lipídeos. No citoplasma, encontram-se, além dos componentes usuais em solução, um ou mais vacúolos, delimitados por uma membrana.

De acordo com ANGELIS (1986), as leveduras empregadas industrialmente são quase sempre de forma ovais ou elípticas, com dimensões variadas de 4 a 6 micro de menor diâmetro ou de 6 a 10 micrometro no eixo maior. Estes microrganismos são desprovidos de organelas de locomoção e fixação. Sua parede celular possui microfibrilas que lhes confere forma e resistência.

2.4.1.3 Produção de Leveduras

As leveduras resultantes dos processos exclusivamente destinados a sua propagação são denominados leveduras primárias, que é o caso de fermento biológico, enquanto que as leveduras obtidas como subprodutos de outras industriais fermentativas são denominadas de leveduras secundárias. Dentre as leveduras de crescimento primário, incluem-se, além da *Saccharomyces cerevisiae*, a *Candida utilis* e a *Kluyveromyces fragilis e lactis* (SANTIN, 1996).

A fermentação ocorre em virtude da levedura ser uma célula heterotrófica, isto é, incapaz de utilizar energia solar ou compostos inorgânicos simples e obter a energia para sintetizar os componentes mais complexos. Portanto, a levedura executa o metabolismo fermentativo quando os carboidratos estiverem no seu

interior na forma de monossacarídeos (ANGELIS, 1986)

2.4.1.4 Composição Química da Levedura

Segundo BUTOLLO (1996), a composição química e o valor nutritivo da levedura dependem de uma série de fatores, destacando-se o substrato utilizado, tratamento da massa fluida e concentrações de sais.

De acordo com o meio de cultura de onde provém a levedura, sua composição química pode ter alguma variação conforme está mostrado na tabela a seguir.

A tabela 2.3 apresenta a composição química bromatológica da levedura *Saccharomyces cerevisiae*

Tabela 2.3 Composição Química Bromatológica da Levedura

Parâmetros	Composição %
Umidade (voláteis 105°C)	10,02 – 8,72
Proteína Bruta	28,70 – 38,28
Extrato Etéreo	1,03 – 0,91
Fibra Bruta	0,31 – 0,80
Material Mineral	5,18 – 4,36
Extrativo não Nitrogenado	54,76 – 46,43

Fonte: BUTOLO (1996)

As leveduras além dos componentes contidos nas Tabelas 2.3 e 2.4, contém mais de 10 vitaminas solúveis na água, pertencentes ao complexo B. O conteúdo de carboidratos nas leveduras de alimentação varia de 22 a 34% da matéria seca. O teor de lipídeos nas leveduras atinge a média de 18%, podendo chegar a 40%. Os maiores componentes lipídicos são triglicerídeos, lecitina e ergosterol. Nos triglicerídeos predomina os ácidos, portanto semelhante à composição dos óleos vegetais (ANGELIS, 1986).

HOLANDA (1998), em estudos realizados sobre o valor nutritivo da levedura, confirma que a mesma foi reconhecida como fonte protéica de valor e grande reserva de vitaminas do complexo B, com valores nutricionais, em termos de digestibilidade e valor biológico, em torno de 87%, relativamente altos quando comparados aos totais do ovo de galinha, da ordem de 96%.

Com a riqueza de componentes que as leveduras apresentam, estas são hoje empregadas em maior quantidade como alimento humano ou ração animal, dependendo das condições sanitárias em que são obtidas.

2.4.1.5 Breve Histórico da Utilização das Leveduras

Conforme PANDEY (1992), em 2.600 anos antes de Cristo, os egípcios já dominavam a tecnologia de fabricação de pães. Pasteur há mais de um século, conseguiu caracterizar a individualidade da levedura como um organismo vivo com características próprias decifrando a sua atuação na transformação de açúcares. A *Saccharomyces cerevisiae* foi a primeira levedura utilizada pelo homem e é a mais intensamente cultivada.

Segundo ANGELIS (1986), no esclarecimento de tantos problemas a microbiologia assumiu no século XX o papel primordial, concomitantemente, o estudo das leveduras em relação a sua biologia, fisiologia, sistemática, bioquímica e genética.

Como conhecedora da história da utilização da levedura, ANGELIS (1986), confirma que o estudo de extrato livre de células de levedura foi realizado pelos irmãos BUCHNER e a tentativa de sua preservação acelerou o desenvolvimento da bioquímica, dando a contribuição mais importante com esses microrganismos, que foi o processo bioquímico da fermentação

No Brasil são raras as pesquisas nessa área da tecnologia de alimentos, enquanto, na Rússia, o país onde ocorreu a mais rápida evolução, houve grande produção de levedura. Em 1990, era estimada cerca de dois milhões de toneladas do produto seco, destinada a alimentação animal (HOLANDA, 1998).

Segundo LODDER (1972), até essa época conheciam-se cerca de 350 espécies de leveduras, já na década de setenta mais de 100 novas espécies foram descritas. Das 450 espécies conhecidas taxonomicamente muitas são utilizadas na produção de biomassa, óleo, vitaminas, enzimas, outras são fermentadoras, produzindo etanol. Das espécies produtoras de etanol destaca-se a espécie *Saccharomyces* (a mais empregada).

De acordo com SANTIN (1996), o primeiro processo biotecnológico para a produção industrial de microrganismos úteis ao homem foi o de levedura de panificação, *Saccharomyces cerevisiae*, que por possuir qualidades nutritivas, passou também a ser produzida para utilização como alimento humano ou animal.

2.4.2 Características Morfo-fisiológicas dos Cactos

Os cactos são vegetais típicos de regiões desérticas. São originários do continente americano e estão distribuídos principalmente nos trópicos. No México encontra-se uma grande quantidade de espécies de cactáceas, onde possui a mais antiga evidência de seu uso na alimentação humana (SMITH, 1967).

Para NOBEL (1991), o sucesso agroecológico das cactáceas é, em parte, reflexo da captação atmosférica diária do dióxido de carbono (CO_2) e da perda de água, fenômenos que ocorrem principalmente durante a noite nessas plantas. Estas são denominadas de plantas de metabolismo ácido crassuláceo (CAM) utilizam um mecanismo que resulta em fechamento dos estômatos durante o dia e fixação do CO_2 atmosférico à noite (SPONNER *et al.*, 1978 e MAGALHÃES, 1979) e desta maneira conseguem reter sua água interna através de baixíssimos índices de transpiração, o que se torna insignificante em termos de perda de água, mesmo com os estômatos abertos.

Segundo NOBEL (1994), as plantas CAM, como as *opuntias*, representam de 6 a 7% das quase 300.000 espécies de plantas; a maioria das espécies de plantas (92 –93%) é do tipo C_3 , cujo produto de fotossíntese é um composto de três carbonos. Somente 1% das espécies vegetais são do tipo C_4 (cujo primeiro produto de fotossíntese é um composto de quatro carbonos), comparativamente com essas espécies C_3 e C_4 , as plantas CAM são geralmente, mais lentas no crescimento; todavia, essa baixa produtividade não é inerente à característica do metabolismo CAM. PIMENTA (1990), afirma que mesmo que a conservação de água seja de extrema importância para as *opuntias*, outras variáveis ambientais como temperatura, iluminação, nutrientes e salinidade do solo, também afetam seu consumo diário de CO_2 , produtividade, reprodução e sobrevivência.

São conhecidos aproximadamente 200 gêneros e 2000 espécies de cactos. Para evitar a perda de água, os cactos transformaram as folhas em espinhos, ao longo de sua evolução, e desenvolvem uma epiderme dura e recoberta por uma película que reduz a transpiração. Suas formações celulares tornam-se esponjosas e adquirem capacidade de armazenar água. Os tecidos que constituem o parênquima aquífero conferem aos cactos seu aspecto característico. As raízes são longas e profundas, aptas a retirar do solo a maior

parte da água proporcionada pelas chuvas rápidas e intensas que caem no ambiente seco em que proliferam.

SAMPAIO (2002), afirma que os espinhos são indispensáveis à sobrevivência dos cactos, pois os mesmos têm inúmeras finalidades, tais como: reduzem a temperatura da superfície da planta; protegem a planta contra o ataque dos animais; atuam proporcionando o sombreamento, evitando que os cactos fiquem expostos a radiação solar direta; constituindo estruturas finas que contribuem com a condensação de vapor de água e com a formação de orvalho, aumentando a disponibilidade de água para as plantas, principalmente nos períodos de baixas temperaturas durante a noite.

2.4.2.1 Mandacaru sem espinhos (*Cereus jamacaru* P.DC)

O mandacaru sem espinhos é um cacto encontrado em toda região do Nordeste enfeitando os jardins e em algumas propriedades rurais já são plantados pra serem utilizados na alimentação dos ruminantes. São resistentes a longos períodos de estiagem. Seu crescimento é proporcional às condições ecológicas em que se encontra, seu crescimento é mais rápido em regiões com pluviosidade baixa.

Os ramos do mandacaru são irregulares dispostos em ângulo agudo com o eixo principal levemente curvado, dando à planta um aspecto de um candelabro, é exatamente por essa forma que pertence ao gênero *cereus*, palavra de origem latina que significa círio, vela. Seu fruto, com cerca de 12cm de comprimento, é vermelho, carnoso, polpa branca, brilhante e comestível, embora insípido (BRAGA, 1960).

O mandacaru perde pouca água para a atmosfera devido à forma do seu caule (grosso e elipsóide) desprovido de folhas, o que reduz a superfície de evaporação do vegetal e por causa da presença de uma espessa cutícula que reveste os ramos, possui, no seu interior, tecidos mucilaginosos, que podem absorver e armazenar grande quantidade de água. As raízes também têm relevante importância no aproveitamento da água do ambiente, já que absorvem com facilidade todo recurso hídrico à sua volta. Por isso, na estiagem quando todas as plantas secam e perdem as folhas, o mandacaru mantém-se verde contrastando com a paisagem.

Segundo BRAGA (1976) os artículos novos do mandacaru, verde-azulados, depois de queimados servem de alimentos para o gado. A análise feita pelo Instituto de Química Agrícola, do ministério da agricultura, apresentou a seguinte composição química para o mandacaru:

Umidade	15,84%
Proteína bruta	10,72%
Etrato etéreo	1,04%
Etrato não nitrogenado	45,52%
Fibra bruta	16,22%
Minerais	10,66%

GERMANO *et al.* (1991) avaliando a composição química e mineral de seis cactáceas, no semi-árido paraibano, constataram que o mandacaru com espinhos apresentou maior teor de proteína bruta (10,18%), diferindo das demais espécies estudadas. Os autores verificaram variação entre os constituintes minerais das cactáceas, sendo que os teores de Ca, K e Mg encontrados, apresentaram-se acima das exigências estabelecidas pelo NRC (1989) para bovinos de corte em crescimento e engorda.

De acordo com ARAÚJO (2001), a composição química e a digestibilidade “in vitro” da matéria seca das cactáceas mandacaru sem espinhos e palma forrageira na matéria seca, possuem os seguintes teores nutritivos (tabela 2.4)

Tabela 2.4 Composição química do mandacaru sem espinhos e palma forrageira

Alimentos	NUTRIENTES								
	MS	MO	PB	EE	ENN	MM	FB	DIVMS	EB (cal/g)
Mandacaru sem espinhos	19,4	90,1	7,0	1,2	68,2	10	14	77,99	3.173
Palma forrageira	11,5	84,8	5,6	2,6	68,5	15,2	8,1	75,5	3.686

Fonte: ARAÚJO (2001)

Dentre outras espécies de cactáceas, o mandacaru sem espinhos ou inerme do mesmo gênero e espécie do seu similar com acúleos ou espinhos surgiu espontaneamente no Ceará. Está sendo difundido em substituição ao mandacaru com espinhos. Infelizmente, ao lado de muitas vantagens, apresenta como grande inconveniência, a lentidão de seu crescimento. É também resistente

á seca, embora até o momento tenha despertado o interesse de poucos criadores do Semi-Árido, vindo a se constituir em adornos de jardins (VIANA, 1969).

Segundo CONCRETES (1968), a classificação botânica do mandacaru é:

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopcida

Sub-classe: Caryophyllidae

Ordem: Caryophyllales

Família: Cactaceae

Gênero: *Cereus*

Espécie: *Cereus jamacaru* P.DC

2.4.2.2 Palma Forrageira (*Opuntia ficus - indica* Mill)

A palma forrageira tem se constituído em fonte potencial de água e forragem para os animais, nos prolongados períodos de estiagem da região Semi-Árida do Nordeste. Entretanto, apenas o fornecimento dessa cactácea não é possível atender as necessidades nutricionais do rebanho, levando em consideração, sua limitação protéica e de fibra, conforme ressaltado por ALBUQUERQUE (2002).

A palma forrageira freqüentemente representa a maior parte do alimento fornecido aos animais durante o período de estiagem nas regiões Semi-Áridas do Nordeste, o que é justificado pelas seguintes qualidades: a) bastante rica em água, mucilagem e resíduo mineral; b) apresentam alto coeficiente de digestibilidade da matéria seca, tem alta produtividade. Embora possua características adaptáveis às condições da região, particularmente relacionadas aos valores nutricionais, mostra-se inferior a outras culturas forrageiras como o sorgo, milho, capim elefante, etc. Esta cactácea pode ser oferecida como alimento a gado de leite e de corte, a bois, cabras, ovelhas e porcos (TEIXEIRA, 1999; FELKER, 1990, SEBRAE, 2001).

TEIXEIRA (1999), através de pesquisas desenvolvidas em relação ao consumo de palma forrageira como fonte de água para os animais na África do Sul, relata que carneiros foram mantidos consumindo só a palma forrageira como fonte de água durante 525 dias. Considerou que o consumo de palma forrageira por ovinos chega de 9 a 10 Kg/dia.

Já VIANA (1969), realizando pesquisas com vacas no período de lactação, observou que o consumo médio de palma forrageira é de 77,3Kg ao dia e o consumo máximo é de 117 Kg/dia. Pela boa aceitação pelos animais e disponibilidade desta cactácea, a torna uma alternativa de grande relevância nos períodos de longa estiagem.

É bom fornecer a palma forrageira na dieta animal sempre associado a um suplemento protéico. Entretanto, a quantidade não pode ultrapassar de 50% da dieta e que os animais podem consumir até 10% do seu peso vivo de palma se eles receberem suplementação protéica. Como o principal atributo da palma forrageira é o seu alto valor energético, elevado coeficiente de digestibilidade e seu grande potencial hídrico, torna-se necessário balancear a ração em proteínas e minerais (VIANA, 1965; SHOOP *et al.* 1977; DE KOCK, 1980; FELKER, 1992).

De acordo com ALBUQUERQUE (2002), de maneira geral, os baixos teores de matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) da palma forrageira, implicam na ingestão de grandes quantidades desse alimento para que sejam atendidas as necessidades desses nutrientes. Além disso, é bom lembrar que animais alimentados com quantidades elevadas de palma, comumente, apresentam distúrbio (diarréia), o que, provavelmente, está associado à baixa quantidade de fibra dessa forragem. Daí, a necessidade de complementa-la com volumosos ricos em fibra, a exemplo de silagens, fenos e capins secos.

LOPES (2001), afirma que as espécies de palma forrageira se constituem como principal fonte de alimentos para os rebanhos bovinos, caprinos, ovinos e outros animais nas secas prolongadas do Nordeste Semi-Árido. Ressaltou ainda que nos estados de Alagoas, Pernambuco e Paraíba o suprimento de forragens verdes durante a época seca, baseada na utilização das palmas forrageiras, garante a sobrevivência de diversas espécies de animais, sem as quais não sobreviveriam.

Segundo pesquisa realizada pelo SEBRAE (2001), observou-se que, depois de quatro a seis anos com um manejo adequado, é possível obter 100.000Kg de palma forrageira por hectare. Com o consumo diário de 50Kg, um hectare com esta presunção daria uma reserva alimentar para 5,5 animais por ano. Daí, a importância da palma forrageira como reserva para prevenir as perdas econômicas associadas à venda do gado durante a seca.

2.4.2.3 Breve Histórico da Palma Forrageira

Ao contrário de todas as outras cactáceas, que só agora começaram a ser cultivada experimentalmente, o gênero *Opuntia* que inclui a palma forrageira vem sendo plantado pelo homem há milhares de anos, tornando-se uma das plantas com cultivo mais antigo do México (HOFFMANN, 2001).

Ainda o mesmo autor afirma que no ano 1520 as opuntias mexicanas foram levadas para a Europa, de onde se dispersaram, a partir do Mediterrâneo para diversos países no início do século XIX, quando o aparecimento de corantes químicos dominou o mercado mundial, o cultivo do inseto cochonilha (*Dactylopus coccus* Costa), hospedeiro nas opuntias, que produz o corante escarlata do carmim. Este produto era o terceiro artigo de exportação mais importante do México, perdendo em importância econômica apenas para o ouro e para prata. Todavia, parece não existir dúvidas que, inicialmente, no Brasil, a palma foi plantada com o objetivo de hospedar tal inseto para produzir este corante vermelho, no que se resultou em uma tentativa sem êxito. Com este insucesso a palma passou a ser cultivada como planta ornamental, quando um dia, por acaso foi consumida por uma vaca, tendo despertado interesse dos criadores que então, passaram a cultivá-la como planta forrageira (FARIAS, 1998).

A palma forrageira, é cultivada com relativo sucesso no Semi-Árido Nordeste, assim como nas regiões Áridas e Semi-Áridas dos Estados Unidos, México, África do Sul e Austrália, tendo sido introduzida no Brasil no ano de 1880, no Estado de Pernambuco, por meio de raquetes provenientes do Texas, EUA, DOMINGUES (1963).

Conforme TEIXEIRA (1999), a palma forrageira foi introduzida no Brasil, por apresentar características morfo-fisiológicas que a torna apropriada a regiões Semi-Áridas, constituindo uma das mais importantes bases de alimentação para bovinos.

LOPES (2001), fazendo um rastreamento sobre a cultura da palma forrageira na região Nordeste, afirmou que os municípios de Sertânea – PE e Monteiro – PB são tradicionalmente zonas produtoras desta forragem. As espécies de palma forrageira cultivadas nesta região são a *Opuntia ficus indica*

Mill (Palma gigante) e a *Nopolea cochinillifera* (Palma doce ou miúda).

2.4.2.4 Taxonomia e Características

Segundo CORRÊA (1978), a taxonomia da palma forrageira é:

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Magnoliatae

Ordem: Caryophyllales

Família: Cactaceae

Gênero: *Opuntia*

Espécie: *Opuntia ficus-índica*

SCHEINVAR (1992), descreveu as características morfológicas da palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) como: uma espécie arborescente com 3,5m de altura, coroa larga, glabra, caule com 60 – 150cm de largura, cladódios obvolados com 30 – 60cm de comprimento, 20 – 40cm de largura e 19 – 28mm de espessura, verde escuro, cobertos com uma camada de cera. Os espinhos são quase ausentes, raramente um em poucas aréolas, aproximadamente com 1cm de comprimento, cor cinza, translúcidos. As flores são de cor amarela ou laranja, a fruta é amarela ou púrpura com muita polpa e casca fina e comestível.

BARBOSA (1998) descreveu a palma forrageira como sendo ramosíssimo, de porte desenvolvido; articulações grossas e carnos-suculentas, oblíquas ou elípticas, planas, inermes ou com espinhos; flores de tamanho médio, amarelas, brilhantes; fruto baga, ovóide, grande amarelo ou roxo quando madura com espinhos no pericarpo.

De acordo com ALBUQUERQUE (2002), de maneira geral, os baixos teores de matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) da palma, implicam na ingestão de grandes quantidades desse alimento para que sejam atendidas as necessidades desses nutrientes.

2.4.2.5 Valor Nutritivo

Sob o ponto de vista da nutrição animal, as *Opuntias* são consideradas importantes recursos forrageiros na região semi-árida por apresentarem alto teor

de umidade (cerca de 85%), alta digestibilidade “in vitro” (cerca de 75%), alto conteúdo de vitamina A, apresentam 29µg de carotenóides e 13mg de ácido ascórbico por 100g de cladódios, mas com baixos teores de proteínas (cerca de 5%), matéria orgânica (67%), energia (2,61 Mcal/Kg), fibras brutas (4,3%), P (0,08 – 0,18%), Ca (4,2%), K (2,3%) e Mg (1,4%). (GONZÁLEZ, 1989; GREGORY e FELKER, 1992; SEBRAE, 2001).

De acordo com TEIXEIRA (1999), a composição bromatológica considerando a partir das que sobressaem do solo como base (1) e as subseqüentes como: primeiro (2), segundo (3), terceiro (4) e quarto (5) raquetes, a palma forrageira apresentou valores médios para a matéria seca, proteína bruta, matéria mineral, matéria orgânica, fibra neutra detergente e fibra ácida detergente de 6,38; 11,4; 24,39; 75,61; 48,49 e 19,26%, respectivamente.

ARAÚJO (1994), realizando estudos sobre a composição química e a digestibilidade “in vitro” da matéria seca de alimentos utilizados pelos animais no cariri oriental da Paraíba, detectou que a palma forrageira possui em média 6,1 de PB; 14,4 de MS e 78,05% de DIVMS (digestibilidade “in vitro” da matéria seca).

Para SANTOS (1998) a cultura da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica Mill*), constitui-se numa importante alternativa forrageira para as regiões Semi-Áridas, visto que apresenta elevada eficiência de uso d’água devido ao metabolismo fotossintético do tipo CAM. Produções anuais em torno de 157Kg/ha de matéria seca (MS) foram registradas para essa cultura no estado de Pernambuco em cultivo adensado, desde que realizadas correções e adubações do solo além do controle de plantas daninhas.

De acordo com FARIAS (1998) a palma forrageira apresenta-se rica em energia, chegando a valores em torno de 75% de NDT (nutrientes digestíveis totais) na matéria seca.

BARBOSA (1998) pesquisando a composição química de alimentos do estado da Paraíba no setor pecuário encontrou os seguintes teores nutritivos na matéria seca para o mandacaru e palma forrageira (Tabela 2.5).

Tabela 2.5 Composição química do mandacaru e palma forrageira

Alimento	Nutrientes (g/kg)							Minerais		
	MS	MO	PB	FB	EE	ENN	MM	Ca	P	N
	1000	760,9	72,1	153,5	12,9	522,4	239,1	38,04	0,92	11,54
Mandacaru	129,1	97,3	9,3	19,7	1,6	67,3	30,7	4,75	0,12	1,49
	1000	775,4	59,8	125,8	16,4	573,4	224,6	18,97	1,61	9,57
Palma forrageira	96,3	74,7	5,7	12,1	1,6	55,3	21,6	1,82	0,15	0,91

Fonte: BARBOSA (1998)

Valores em Itálico: expressos na matéria seca

Valores normais: expressos na matéria natural

Conforme REYES (1978), na composição química da palma forrageira a mucilagem das raquetes da variedade *Opuntia ficus - indica* Mill apresentam os seguintes açúcares solúveis: glicose, frutose, sacarose e os polissacarídeos D-xilose, h-arabinose, D-galactose e ácido D-galacturônico,

Segundo pesquisas realizadas pela FAO (2001), o perfil dos aminoácidos nos cladódios de *Opuntias* não é de grande importância para que sejam fornecidos como alimento a animais ruminantes, já que os microrganismos existentes no trato digestivo desses animais podem sintetizar os aminoácidos essenciais. Todavia, se os cladódios de *Opuntia* forem usados como alimento por não ruminantes ou por humanos, a composição de aminoácidos das proteínas será de interesse.

Com relação à composição química da palma MONJAUZE e LE HONÉRON, citados por CARVALHO (1999), estudando as variações nos teores de proteína bruta na base da matéria seca, ao analisar o estágio de desenvolvimento dos cladódios (raquetes) com um, dois e três anos verificaram que para raquetes de 1, 2, e 3 anos obtiveram teores de proteína bruta de 3,1; 2,8 e 2,5; respectivamente.

Para CORSI (1990), o estágio de maturidade das forrageiras é acompanhado pelo aumento da matéria seca, ocorrendo, com isso, diminuição na porção de carboidratos solúveis e aumento na fração de baixa digestibilidade da planta.

SANTOS *et al.* (1992), verificaram que depois de cortada, o armazenamento por um período de até 16 dias em galpão coberto e aberto, não afetou a composição química da palma forrageira, não havendo perdas aparentes de matéria seca, proteína bruta e carboidratos solúveis nas variedades redonda, gigante e miúda. Para estes autores os resultados obtidos sugerem que maior quantidade de palma pode ser colhida independente de sua utilização imediata, diminuindo os custos envolvidos nas atividades de corte e transporte.

ALBUQUERQUE (2002), em pesquisa realizada em Caruaru no Estado de Pernambuco encontrou os seguintes teores nutritivos na percentagem da matéria seca da palma forrageira na forma "in natura" (Tabela 2.6).

Tabela 2.6 Composição química da palma forrageira

Alimento	Ms (g/kg)	PB (g/kg)	FDN (g/Kg)	FDA (g/Kg)
Palma forrageira	115,6	36,0	256,5	172,7

Fonte: ALBUQUERQUE (2002).

Segundo ARAÚJO (1994), em estudos realizados sobre a composição química e digestibilidade "in vitro" da matéria seca da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill), nas condições climáticas da microrregião do Cariri Oriental da Paraíba, concluiu que a mesma não atende a demanda de proteína bruta para manutenção dos animais. Logo a palma forrageira deve ser fornecida aos animais juntamente com outros alimentos de maior valor nutritivo, incrementando a dieta alimentar para garantir de maneira racional melhor fornecimento de proteína atendendo com plenitude a exigência nutricional dos ruminantes. Verificou ainda a percentagem do coeficiente de digestibilidade "in vitro" da matéria seca para a palma forrageira pertencente a cultivar Gigante correspondente a 78,05%.

SANTOS *et al.* (1990), verificaram que as cultivares da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) estudadas apresentaram diferenças significativas entre si, quanto á percentagem do coeficiente de digestibilidade "in vitro" da matéria seca, sendo de 74,11; 75,12 e 77,37% para as cultivares Redonda, Gigante e Miúda, respectivamente, com uma média de 75,53%.

De acordo com pesquisa realizada pela FAO (1995), a percentagem do coeficiente de digestibilidade "in vitro" da matéria seca da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) da cultivar Gigante é de 75%. Essa alta digestibilidade

foi confirmada durante todo o ano e considerada maior que a de nove outras espécies em estudo.

A palma forrageira além de possuir grande quantidade de água é também rica em vitamina A, possui resíduo de mineral assim como consideráveis teores de cálcio e ferro. Apresenta alto teor de carboidratos solúveis, além de apresentar alto coeficiente de digestibilidade “in vitro” da matéria seca e alta produtividade (TEIXEIRA *et al.*, 1999; SANTOS *et al.*, 1992).

A palma forrageira é uma forragem muito útil em épocas de seca, principalmente porque fornece energia digerível, água e vitamina A. É necessário adicionar proteínas e minerais á palma forrageira para balancear a dieta do gado (SEBRAE, 2001)

CAPITULO 3

Materiais e Métodos

3.1 Introdução

Neste capítulo são descritos os materiais selecionados e metodologias utilizadas no desenvolvimento deste trabalho. Os materiais são relacionados, indicando-se suas procedências e condições morfológicas e fisiológicas. Os métodos de ensaios normalizados são apenas citados, enquanto que os métodos que não são normalizados são descritos e/ou referenciados.

3.2 Matérias-primas

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizadas as matérias-primas a seguir, relacionadas:

3.2.1 Substratos

Os substratos utilizados para o enriquecimento protéico foram: o mandacaru sem espinhos (*Cereus jamacaru* P.DC) e palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill).

O campo experimental foi instalado na microrregião do Cariri Paraibano, no município de Soledade, nas bases físicas da Fazenda Donana, cujo solo de classe NCg (Bruno não cálcico), apresentando clima do tipo Bsh semi-árido quente, com temperatura máxima de 36°C e mínima de 16°C, com uma média nunca inferior a 24°C, caracterizado pela grande irregularidade do regime pluviométrico. As precipitações pluviométricas raramente atingem 400mm anuais, (BRASIL, 1972). A vegetação dominante é a caatinga hiper xerófila, que em toda área tem parte arbustiva ou arbórea, com grande quantidade de cactáceas e bromeliáceas.

Nas Figuras 3.1 e 3.2 são apresentados os campos experimentais das duas espécies de cactáceas, utilizadas como substrato para o enriquecimento protéico.



Figura 3.1 Campo experimental do mandacaru sem espinhos (*Cereus jamacaru* P.DC).



Figura 3.2 Campo experimental da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill).

3.2.2 Microrganismo

O microrganismo utilizado para o enriquecimento protéico dos substratos em estudo neste trabalho foi a levedura da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, prensada, do tipo comercial fermento biológico fresco, da marca Fleischmann, com umidade de 80% (b.u), com média de PB de 45%.

3.3 Métodos Experimentais

3.3.1 Teor de Umidade e Atividade de Água

3.3.1.1 Análise do Teor de Umidade

3.3.1.1.1 Preparação das Amostras para Determinação do Teor de Umidade

Para a determinação do teor de umidade do mandacaru sem espinhos e da palma forrageira, as amostras foram pesadas em balança analítica BOSCH padrão. Foi utilizada uma estufa a vácuo FABBE-PRIMAR, á temperatura de 105°C por um período de 24 horas de secagem. Antes de serem pesadas as amostras foram resfriadas em dessecador, até atingirem peso constante. As umidades em base seca foram calculadas pelo emprego da Equação 3.1.

$$X_{bs} = \frac{m_i - m_s}{m_s} \quad (3.1)$$

em que:

X_{bs} = umidade

m_i = massa inicial da amostra

m_s = massa seca da amostra

3.3.1.2 Análise de Atividade de Água

Para o levantamento dos dados das isotermas de dessorção do mandacaru sem espinhos e da palma forrageira, foi utilizado o equipamento Termoconstanter Novasina TH2000, instrumento projetado para a medida de atividade de água. (Figura 3.3).

Nesse equipamento, a temperatura da câmara de medição, onde foram colocadas as amostras, é regulada por meio de um controlador localizado na frente do mesmo, que serve para fixar o valor da temperatura desejada com uma variação menor que 0,2°C, em toda a sua faixa de trabalho que é de 0 a 50°C. A referida câmara, combinada com o regulador de temperatura, forma um mini gabinete climático. A mesma é equipada com um sensor de umidade e de

temperatura – enBSK Novasina. Este sensor mede atividade e temperatura de quantidades de amostras pequenas do material, como pós, granulados, pastas e líquidos. Este equipamento possui o transmissor RTD-200, que converte os sinais da célula de medição. Os valores medidos de umidade relativa (atividade de água) e de temperatura, podem ser lidos diretamente no mostrador do painel dianteiro.



Figura 3.3 Thermoconstanter Novasina TH 2000.
(Equipamento de análise de atividade da água)

3.3.1.2.1 Preparação das Amostras para Determinação da a_w

Inicialmente, as amostras de 6,0g aproximadamente (pequenos pedaços de mandacaru sem espinhos e palma forrageira) foram colocadas dentro de células, que acompanham o aparelho, e após serem pesadas foram levadas à estufa regulada a 70°C por um período de três horas, onde sofreram um processo suave de secagem. Após esse período na estufa, as amostras foram retiradas e colocadas em um dessecador, a fim de uniformizar a distribuição de água na amostra. Posteriormente, as células, contendo as amostras, foram levadas ao equipamento. Thermoconstanter Novasina TH200 para a determinação da atividade de água das amostras, através do sensor enBSK NOVASINA.

As amostras ficaram no equipamento até que a leitura fosse estabilizada, para então serem retiradas e pesadas em uma balança analítica. Depois de pesadas estas retornaram para a estufa em temperatura de 70°C e aí permaneceram por vinte minutos em média, para em seguida se fazer a leitura seguinte. A sucessão dessas leituras indicou os pontos da curva da isoterma de dessecção do mandacaru sem espinhos e da palma forrageira, para a temperatura determinada. Uma outra amostra foi levada à estufa com temperatura regulada a 105°C por 24 horas para a determinação da massa seca (MOURA, 2001).

3.3.2 Estudo da Cinética do Crescimento do Microrganismo em Fermentação Semi-Sólida

Para o desenvolvimento deste trabalho, após determinação do teor de umidade e atividade de água dos substratos, realizou-se o estudo cinético de crescimento da levedura para o enriquecimento protéico das cactáceas mandacaru sem espinhos e palma forrageira em fermentação semi-sólida.

O estudo cinético foi realizado com as duas cactáceas em estudo, analisando a influência do crescimento do microrganismo em relação ao aumento da proteína bruta no período de 6, 12, 24, 36, 48 e 72 horas.

3.3.2.1 Preparação das Amostras

As amostras do mandacaru sem espinhos e palma forrageira foram trituradas em forrageira da marca Nogueira nº 02, e colocadas em bandejas de estrutura de alumínio medindo 12cm de altura e 21cm de diâmetro. A seguir foram inoculadas com levedura de panificação correspondendo a 10% do total do conteúdo do substrato. Acondicionadas nestes biorreatores identificados, as amostras foram colocadas em estufas a $39 \pm 1^\circ\text{C}$. A cada período distinto (6, 12, 24, 36, 48 e 72 horas), eram coletadas pequenas amostras de cada tipo de substrato (mandacaru sem espinhos e palma forrageira) e após colocadas em recipientes de plástico hermeticamente fechados e identificados, foram armazenadas em freezer horizontal da marca BRASTEMP com temperatura

variando entre -10 e -15°C. Após a retirada das últimas amostras coletadas no período de 72 horas, juntamente com as demais amostras retiradas do freezer estas foram colocadas em uma caixa de isopor para serem levadas ao Laboratório de Alimentação e Nutrição Animal do Centro de Ciências Agrárias – UFPB- Areia, para posteriores análises de proteína bruta. A análise de proteína bruta, foi determinada segundo o método Kjeldahl, multiplicando-se o teor de nitrogênio por um fator igual a 6,25 conforme método descrito por SILVA (1998).

3.3.3 Verificação dos Efeitos das Variáveis de Entrada (Concentração Inicial do Inóculo, Temperatura e Espessura da Camada) sobre o Processo de Enriquecimento Protéico e Otimização do Processo.

3.3.3.1 Planejamento Fatorial

Um planejamento experimental fatorial, foi utilizado, tendo como finalidade avaliar quantitativamente a influência das variáveis de entrada (concentração inicial de inóculo, temperatura e espessura da camada) sobre o sistema. Foi realizado um planejamento fatorial 2^3 especificando os níveis de cada variável de entrada, em seguida a realização de ensaios, registraram-se as respostas observadas em todas as possíveis combinações. A listagem dessas combinações é chamada de Matriz de Planejamento (Tabela 3.1).

O planejamento fatorial foi analisado utilizando-se do programa computacional software *Statística* versão 5.0 para obtenção da regressão dos dados experimentais.

A Tabela 3.1 a seguir, apresenta a matriz de planejamento, totalizando 11 ensaios, sendo 3 no ponto central, objetivando principalmente, verificar a reprodutibilidade do experimento, conseqüentemente verificar o erro estatístico.

Tabela 3.1- Matriz de planejamento fatorial completo 2³.

Ensaio	Concentração	Temperatura	Espessura
1	-1 (5%)	-1 (30°C)	-1 (2) cm
2	+1 (15%)	-1 (30°C)	-1 (2) cm
3	-1 (5%)	+1 (38°C)	-1 (2) cm
4	+1 (15%)	+1 (38°C)	-1 (2) cm
5	-1 (5%)	-1 (30°C)	+1 (6) cm
6	+1 (15%)	-1 (30°C)	+1 (6) cm
7	-1 (5%)	+1 (38°C)	+1 (6) cm
8	+1 (15%)	+1 (38°C)	+1 (6) cm
9	0 (10%)	0 (34°C)	0 (4) cm
10	0 (10%)	0 (34°C)	0 (4) cm
11	0 (10%)	0 (34°C)	0 (4) cm

A Tabela 3.2 apresenta os níveis reais e codificados das variáveis independentes em estudo.

Tabela 3.2. Níveis das variáveis do planejamento fatorial completo 2³

Variável	Nível -1	Nível 0	Nível +1
Concentração (%)	5	10	15
Temperatura (°C)	30	34	38
Espessura (cm)	2	4	6

3.3.3.2. Coleta e Preparação das Amostras

– Mandacaru sem espinhos (*Cereus Jamacaru* P.DC)

Os cladódios do mandacaru sem espinhos foram coletados com cortes efetuados nas articulações, livrando as plantas que ficam nas bordas de cada parcela, sem apresentar aparentemente pragas nem doenças. O material antes de ser conduzido para o Laboratório de Engenharia Bioquímica do

DEQ/CCT/UFCG, foi triturado em uma máquina forrageira, marca Nogueira, nº 02, resultando numa massa com consistência pastosa, constituindo o substrato. A preparação dos materiais que foram utilizados nos ensaios constituiu da adição de 5, 10 e 15% de levedura por 1Kg do substrato resultante da trituração de cada cactácea em estudo (conforme planejamento fatorial – Tabela 3.1).

– Palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill)

As raquetes da palma forrageira foram coletadas com cortes efetuados nas articulações, utilizando aquelas que não apresentaram pragas ou doenças, a partir das terciárias, conforme colheita feita tradicionalmente na região. Após o corte o material foi transportado também para o Laboratório de Engenharia Bioquímica do DEQ/CCT/UFCG, passando pelo mesmo processo do mandacaru sem espinhos até obter o substrato na forma desejada para realização do estudo do enriquecimento protéico do mesmo.

3.3.3.3 Biorreatores

Os experimentos foram realizados em bandejas (biorreatores) em estrutura de alumínio com 3 dimensões distintas, conforme ilustrado na Figura 3.4 e 3.5.

Foi necessário utilizar biorreatores de diferentes dimensões devido à necessidade de fixar os níveis de espessura das camadas conforme matriz de planejamento (Tabela 3.1), sem modificação da massa inicial do substrato 1 Kg.

3.3.3.4. Inoculação do substrato

Foram realizados 12 experimentos, sendo 11 enriquecidos com a levedura da espécie *Saccharomyces cerevisiae* e um sem inóculo. O enriquecimento protéico foi realizado no Laboratório de Engenharia Bioquímica pertencente ao Departamento de Engenharia Química do Centro de Ciências e Tecnologia da UFCG.

Para o preparo da inoculação, utilizou-se o fermento biológico (fermento de panificação), o qual era peneirado em peneira de nylon e adicionado diretamente no substrato nos níveis de 5, 10 e 15% do peso total do substrato.

Em todos os experimentos foram utilizados 1 Kg de substrato úmido por bandeja, distribuídos em camadas com espessuras de 2, 4 e 6 cm de espessura. Os substratos inoculados foram colocados em estufa de cultura, da marca DE LEO, em três temperaturas de 30, 34 e 38°C por um período de 48 horas conforme a matriz de planejamento (Tabela 3.1). Após este período, as amostras “in natura” e processadas foram acondicionadas assepticamente em potes de plástico estéreis que foram devidamente fechados e identificados. Em seguida armazenados em freezer vertical da marca BRASTEMP, temperatura em média de -10 e -15°C até terminar todos os experimentos e serem transportados em uma caixa de isopor para outro laboratório para realização da análise química e digestibilidade “in vitro” da matéria seca.



Figura 3.4. Apresenta os reatores para trabalho com espessura da camada de 2 cm. As quatro bandejas da direita foram utilizadas para testes preliminares.



Figura 3.5. Bandejas (biorreatores) utilizadas nos experimentos, contendo substratos inoculados com a levedura em crescimento. (Níveis de espessura da camada de 4 cm e 6 cm).

3.3.3.5 Análises Químicas

A análise química das amostras “in natura” e processadas, foram realizadas no Laboratório de Nutrição e Alimentação Animal (LNAA) do Departamento de Zootecnia DZ/CCA/UFPB, Areia, PB.

O material ao chegar ao Laboratório, foi retirado do gelo e ficou em temperatura ambiente até o descongelamento total. Em seguida todas as amostras foram pesadas e depositadas em bandejas de papel alumínio, devidamente identificadas. Posteriormente estas amostras foram colocadas em estufa de ventilação forçada com temperatura variando de 55 – 60°C , para evitar a perda ou decomposição de nutrientes, principalmente compostos nitrogenados. O tempo médio da pré-secagem foi de três dias, devido a grande quantidade de umidade presente no material, efetuando-se a pré-secagem quando o mesmo apresentou consistência quebradiça. A metodologia utilizada foi de acordo com a

A.O.A.C (1990). Após a pré-secagem, as amostras foram pesadas, moídas em moinho tipo Willy, com malha de nº40, acondicionadas em frascos de vidros hermeticamente fechados e identificados, para posteriores análises químicas, de acordo com a metodologia descrita por SILVA (1998).

Os resultados são as médias de duas determinações e são apresentadas em percentagem, com aproximação de duas casas decimais, para todos os parâmetros determinados.

3.3.3.5.1 Matéria Seca

Para determinação da matéria seca após a pré-secagem o material foi aquecido a 105°C, por 24 horas, em estufa. Observou-se o peso constante, determinando-se, portanto, a quantidade de matéria seca existente, de acordo com a técnica descrita pela A.O. A. C (1990).

3.3.3.5.2 Proteína Bruta

Para análise da proteína bruta determinamos o nitrogênio (N) contido na amostra, incluindo o N protéico (proteínas) e o nitrogênio não protéico (aminas, amidas, nitratos, aminoácidos livres...) de acordo com o método Micro Kjeldahl. A análise é basicamente dividida em três etapas; digestão, destilação e titulação. A percentagem de proteína bruta é obtida multiplicando-se a percentagem de nitrogênio total pelo coeficiente 6,25. este coeficiente parte do princípio de que as matérias nitrogenadas têm em média 16% de nitrogênio, conforme descrito por SILVA (1998). Existem metodologias específicas onde se separa a fração protéica da não protéica, permitindo a determinação da proteína verdadeira.

3.3.3.5.3 Proteína Verdadeira

Para a determinação da proteína verdadeira foi utilizado o método do BIURETO descrito por GORNAL (1949).

3.3.3.5.4 Aumento de Proteína bruta e Proteína verdadeira

Para determinação do aumento da percentagem de proteína bruta e proteína verdadeira tiveram como base o valor protéico contido na massa seca das cactáceas "in natura" e foi definido como a razão entre o valor protéico de cada cactácea enriquecida (g) e o valor inicial de proteína bruta e proteína verdadeira das cactáceas na forma "in natura" (g), conforme Equações 3.2 e 3.3.

$$APB (\%) = \frac{MS \times PB (\text{enriquecido}) - MS \times PB (\text{"in natura"})}{MS \times PB (\text{"in natura"})} \times 100 \quad (3.2)$$

$$APV (\%) = \frac{MS \times PV (\text{enriquecido}) - MS \times PV (\text{"in natura"})}{MS \times PV (\text{"in natura"})} \times 100 \quad (3.3)$$

3.3.3.5.5 Energia Bruta

A energia bruta refere-se á quantidade de calor liberado de uma amostra, quando esta é completamente oxidada em ambiente rico em oxigênio. Utilizou-se uma bomba calorimétrica (calorímetro adiabático de Parr), de acordo com a metodologia proposta pela A.O.A.C (1990). A produção de calor é medida pela elevação da temperatura da água, em condições adiabáticas.

3.3.3.5.6 Fibra em Detergente Neutro

Para determinação da fibra em detergente neutro, utilizou-se a técnica segundo VAN SOEST, citado por SILVA (1998). Esta técnica permite remover todo conteúdo celular, separando os constituintes da parede que é formada basicamente por celulose, hemicelulose, lignina e proteína lignificada.

3.3.3.5.7 Fibra em Detergente Ácido

Para determinação da fibra em detergente ácido foi utilizado um detergente ácido específico, a fim de solubilizar o conteúdo celular e a hemicelulose, além da maior parte da proteína insolúvel, obtendo-se um resíduo insolúvel no detergente ácido, denominado de fibra em detergente ácido (FDA), constituída, em quase sua totalidade de lignina e celulose. A metodologia utilizada foi á técnica proposta por VAN SOEST, descrito por SILVA (1998).

A fibra em detergente ácido é a proporção menos digerível, da parede celular das forragens, pelos microrganismos.

3.3.3.5.8 Hemicelulose

A fração de hemicelulose é determinada pela diferença entre a fração da F.D.N. e da F.D.A. A fração de hemicelulose, constitui-se um grupo de substâncias em que se incluem os polímeros de pentoses (xilose, ribose, etc.) e certos polímeros de hexoses e ácidos urânicos, conforme SILVA (1998).

3.3.3.5.9 Cinzas

A determinação de cinzas foi realizada através da queima da matéria orgânica, ou seja, incineram-se as amostras do mandacaru sem espinhos e da palma forrageira em uma mufla com temperatura de 550°C durante 6 horas para total destruição da matéria orgânica. O teor de cinzas também serve para a avaliação da matéria orgânica, determinada pela diferença (MO = 100 – Cinzas).

3.3.3.5.10 Digestibilidade “in vitro” da Matéria Seca

A digestibilidade “in vitro” da matéria seca das forrageiras estudadas, foi determinada no Laboratório de Nutrição e Alimentação Animal do DZ/CCA/UFPB, Areia, PB. A técnica consiste em deixar amostras de forragens em contato com o conteúdo líquido de rúmen (inóculo), no interior de um tubo de ensaio, onde se tentam reproduzir as condições predominantes do rúmen-retículo (presença de microrganismo, anaerobiose, temperatura de 39°C, poder tampão e pH de 6,9), visando representar o que ocorre “in vivo” durante 48 horas de fermentação. A metodologia utilizada foi a técnica proposta por TILLEY & TERRY descrito por SILVA (1998).

Atividade de Água

Levantamento das Isotermas de Sorção das Cactáceas

4.1 Introdução

A atividade de água (a_w) é uma variável de vital importância no estudo de fermentação em estado semi-sólido, porque esta variável pode ser limitante no processo de fermentação semi-sólida, pois atividade de água mais baixa tem como consequência uma menor transferência de massa, o que afeta o processo de enriquecimento protéico (cultivo de microrganismo), apresentando uma baixa disponibilidade de água para a levedura, reduzindo acentuadamente o metabolismo bioquímico do substrato em biomassa (crescimento da levedura). Entretanto, no caso oposto de atividade de água alta no substrato, a quantidade de água disponível é alta, podendo interferir no processo de fermentação, em função da facilidade de infecção microbiana (outros microrganismos não desejáveis), que dificultará no desenvolvimento do processo (PANDEY *et al.*, 1992; ANDRADE, 1999).

O crescimento do microrganismo é muito sensível aos parâmetros do meio como: temperatura, o potencial da água ou atividade de água. Na célula o transporte da água dá-se seguindo o gradiente do potencial da água entre o meio intra e extracelular. Em meio heterogêneo, o potencial da água ou atividade de água é relacionado com a concentração de solutos, forças capilares e propriedades de absorção e dessorção em substratos sólidos insolúveis (GERVAIS e MOLIN, 2003).

O metabolismo da célula microbiana é proporcional ao valor da atividade de água, em função da influência da pressão osmótica sobre as trocas através da membrana celular (SANTIN, 1996).

Na fermentação semi-sólida, o microrganismo apresenta dentro dos limites de atividade de água que ele possa exercer suas atividades metabólicas e seu crescimento. No caso em estudo, do enriquecimento protéico das cactáceas mandacaru sem espinhos e palma forrageira, utilizadas como substratos, a

levedura apresenta atividade de água ótima em 0,85 (GONZALEZ *et al.*, 1988; ANDRADE, 1999). Segundo GONZALEZ *et al.* (1988), pequena flutuação no valor ótimo da atividade de água pode causar interferência no metabolismo e conseqüentemente no crescimento da levedura.

O presente capítulo tem o objetivo de levantar isotermas de sorção das cactáceas em estudo nas temperaturas usuais dos processos das fermentações, 30, 35 e 40°C, ajustando os dados através da aplicação de modelos matemáticos.

4.2. Estudo das Isotermas de Sorção

Foram obtidas isotermas de sorção para o mandacaru sem espinhos e palma forrageira nas temperaturas de 30, 35 e 40°C, cujos valores experimentais são apresentados nas tabelas em anexo I.

Utilizou-se o software Statistica, versão 5.0, para encontrar os parâmetros dos modelos, através de uma regressão não linear dos dados experimentais. O método de estimativa utilizado foi o Quase-Newton.

4.2.1 Estudo das Isotermas de Sorção do Mandacaru sem Espinhos

A Tabela 4.1 apresenta os parâmetros do modelo de BET. Observa-se que na temperatura de 30°C não foi possível determinar os valores dos parâmetros, pois o ajuste não linear não convergiu. Verifica-se que X_m ficou praticamente constante nas temperaturas de 35 e 40°C. Com relação ao parâmetro C, verifica-se uma elevação com o aumento da temperatura. O parâmetro não apresentou diminuição com o aumento da temperatura. O coeficiente de correlação (R^2) foi baixo para a isoterma na temperatura de 40°C, se comparado com o obtido a 35°C.

Tabela 4.1. Parâmetros do modelo de BET

Temperatura	X_m	C	n	R^2
30°C	–	–	–	–
35°C	0,12	0,61	235	0,98
40°C	0,11	213998,7	52	0,87

A Tabela 4.2 mostra os parâmetros do modelo de GAB para a cactácea mandacaru sem espinhos. Observa que a fração de umidade na monocamada (X_m) aumenta com o aumento da temperatura. Verifica-se aumento no valor do parâmetro C com o aumento da temperatura, tendo o valor sido elevado na isoterma obtida a temperatura de 40°C. O parâmetro K apresentou valores praticamente iguais em torno de 1. O valor de R^2 foi mais baixo para a temperatura de 40°C.

Tabela 4.2. Parâmetros do modelo de GAB

Temperatura	X_m	C	K	R^2
30°C	0,06	14,5	1,06	0,91
35°C	0,117	41,4	0,96	0,92
40°C	0,127	324958,8	0,98	0,86

As Figuras 4.1 e 4.2 apresentam os perfis dos dados experimentais e o modelo de BET que ajusta estes dados das isotermas de 35 e 40°C. O modelo de BET com três parâmetros é bastante usado, fornecendo um bom ajuste dos dados para uma grande variedade de substratos que possuam uma atividade de água na região de 0,05 a 0,6 (PARK e NOGUEIRA, 1992). Nota-se que na temperatura de 35°C (Figura 4.1), o ajuste é bom até a_w igual a 0,6, corroborando com o que está escrito acima. No caso da temperatura de 40°C, o ajuste não foi bom, como pode ser observado na Figura 4.2.

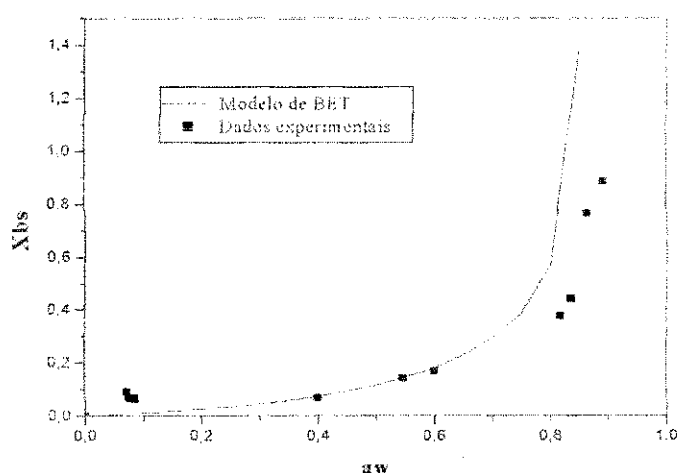


Figura 4.1 Isotherma de sorção do mandacaru sem espinhos, na temperatura de 35°C, ajustada pelo modelo de BET.

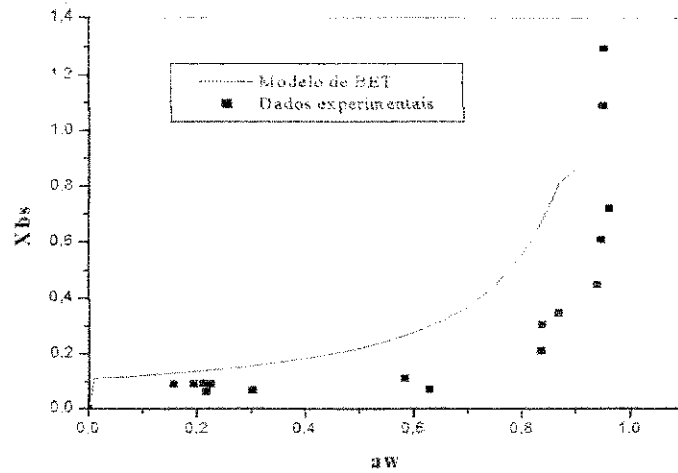


Figura 4.2 Isoterma de sorção do mandacaru sem espinhos, na temperatura de 40^o C, ajustada pelo modelo de BET.

As Figuras 4.3, 4.4 e 4.5 ilustram as isotermas nas temperaturas de 30, 35 e 40^oC, ajustadas pelo modelo de GAB, que é um modelo tripamétrico. Observa-se ajustes bons para as isotermas de 30 e 35^oC, sendo que a isoterma a 40^oC apresentou um ajuste razoável.

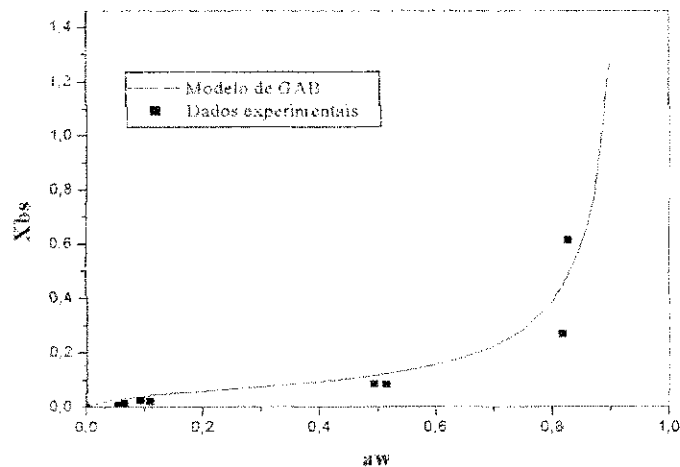


Figura 4.3 Isoterma de sorção do mandacaru sem espinhos, na temperatura de 30^o C, ajustada pelo modelo de GAB.

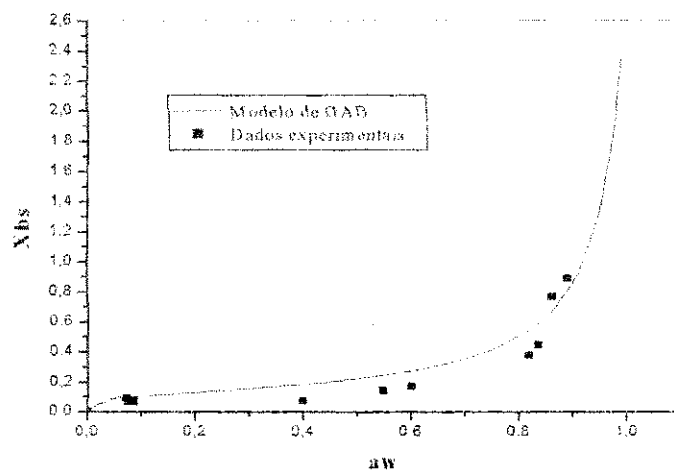


Figura 4.4 Isoterma de sorção do mandacaru sem espinhos, na temperatura de 35^o C, ajustada pelo modelo de GAB.

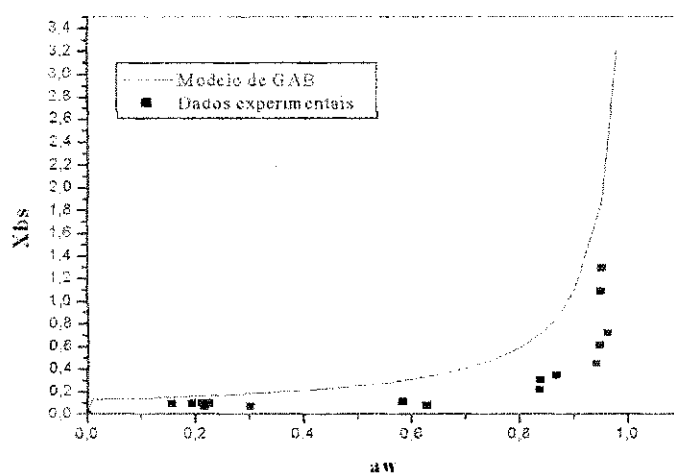


Figura 4.5 Isoterma de sorção do mandacaru sem espinhos, na temperatura de 40^o C, ajustada pelo modelo de GAB.

A Figura 4.6 apresenta as isotermas de 35 e 40^o C para o ajuste do modelo de BET. Até a_w igual a 0,8 a isoterma de 40^o C passa nitidamente acima da de 35^o C.

Na Figura 4.7 são mostrados os perfis ajustados com o modelo de GAB, das isotermas de mandacaru sem espinho nas temperaturas de 30, 35 e 40^o C. Verifica-se que até a_w igual a isoterma de 40^o C passa acima de 35^o C, que está acima de 30^o C.

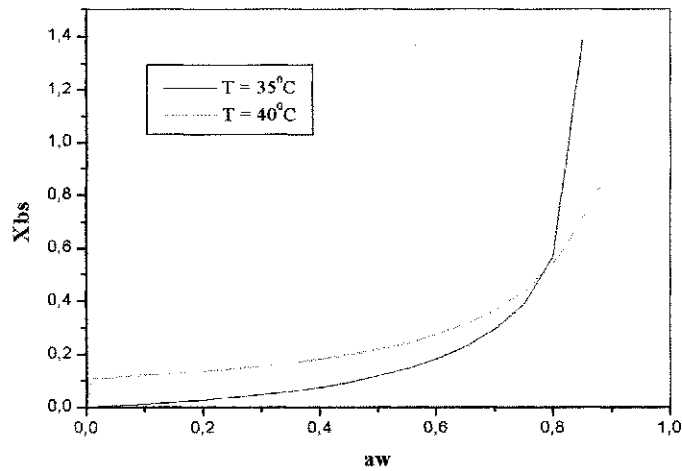


Figura 4.6 Isotermas de sorção do mandacaru sem espinhos, modelo de BET.

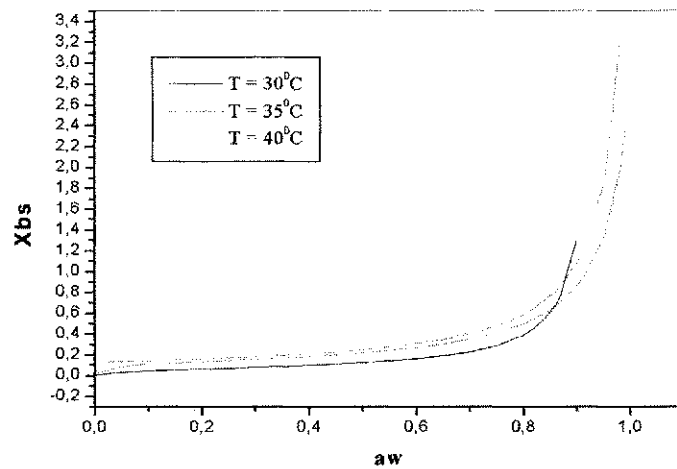


Figura 4.7 Isotermas de sorção do mandacaru sem espinhos, modelo de GAB.

4.3. Estudo das Isotermas de Sorção da Palma Forrageira

A Tabela 4.3 mostra os parâmetros do modelo de BET para o ajuste dos dados experimentais das isotermas de 30, 35 e 40°C da palma forrageira. O parâmetro X_m diminui com a diminuição da temperatura. Já o parâmetro C ocorre o contrário, ou seja, há aumento com a diminuição da temperatura. Com relação ao parâmetro n ocorre uma diminuição de 30 a 35°C, e volta a subir na isoterma de 40°C. O coeficiente de correlação (R^2) foi maior para a isoterma de 30°C, e

diminuiu para as isotermas de 35 e 40°C.

Tabela 4.3 Parâmetros do modelo de BET

Temperatura	X_m	C	n	R^2
30°C	0,083	9,1	156	0,99
35°C	0,143	0,69	37	0,96
40°C	0,39	0,006	49	0,95

A Tabela 4.4 apresenta os parâmetros do modelo de GAB, que ajustou os dados experimentais das isotermas da palma forrageira nas temperaturas estudadas. A fração de umidade na monocamada (X_m) também como anteriormente, cresce com o aumento da temperatura. Os valores de C decrescem com o aumento da temperatura. O valor de K ficou praticamente constante.

Tabela 4.4 Parâmetros do modelo de GAB

Temperatura	X_m	C	K	R^2
30°C	0,063	23,85	1,06	0,99
35°C	0,073	6,4	1,07	0,97
40°C	0,154	2,04	0,97	0,86

A Figura 4.8 ilustra a isoterma de sorção da palma forrageira, na temperatura de 30°C, ajustada pelo modelo de BET. Observa-se que houve um bom ajuste em toda a faixa de a_w .

A Figura 4.9 apresenta a isoterma de sorção da palma forrageira, na temperatura de 35°C, ajustada pelo modelo de BET. Verifica-se, também, que houve um bom ajuste em toda a faixa de a_w .

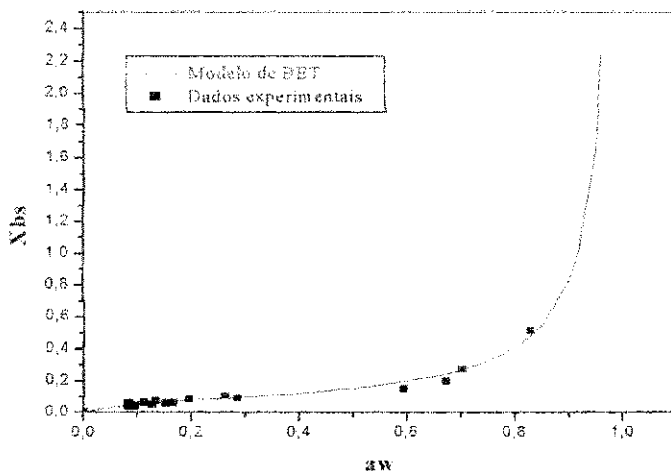


Figura 4.8 Isotherma de sorção da palma forrageira, na temperatura de 30°C, ajustada pelo modelo de BET.

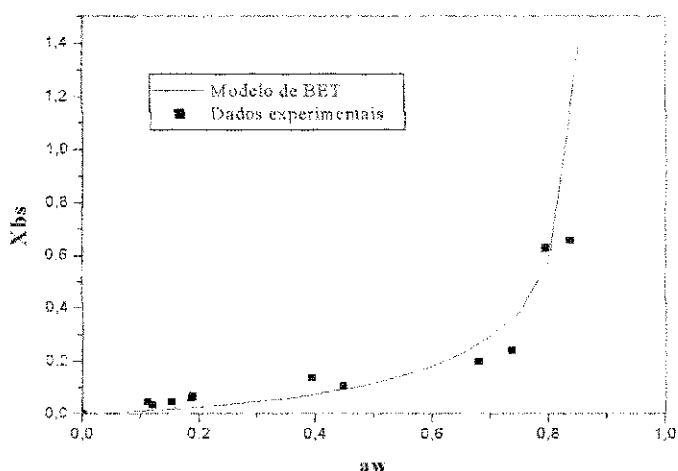


Figura 4.9 Isotherma de sorção da palma forrageira, na temperatura de 35°C, ajustada pelo modelo de BET.

Na Figura 4.10 é mostrada a isoterma de sorção da palma forrageira, na temperatura de 40°C, ajustada pelo modelo de BET. Não é observado um bom ajuste aos dados experimentais.

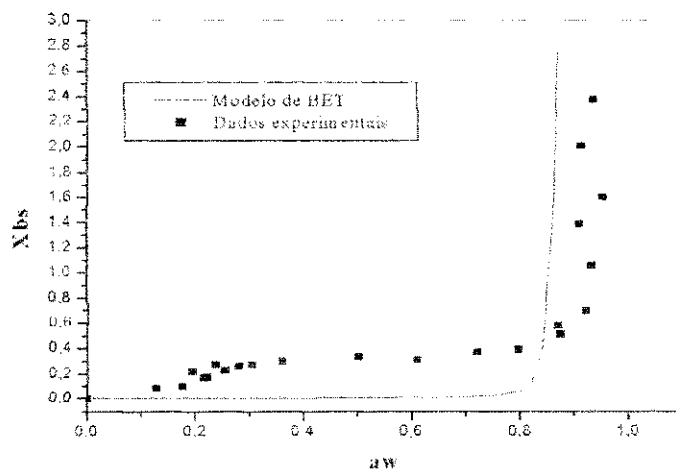


Figura 4.10 Isoterma de sorção da palma forrageira, na temperatura de 40⁰ C, ajustada pelo modelo de BET.

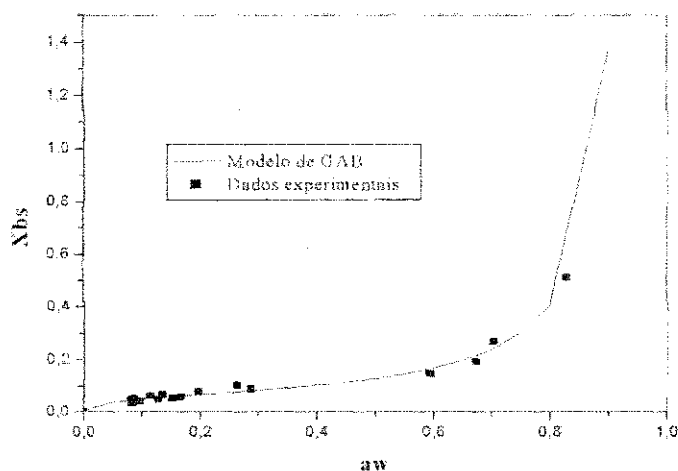


Figura 4.11 Isoterma de sorção da palma forrageira, na temperatura de 30⁰ C, ajustada pelo modelo de GAB.

As Figuras 4.11, 4.12 e 4.13 apresentam as isotermas de sorção da palma forrageira nas temperaturas de 30, 35 e 40⁰C, ajustadas pelo modelo de GAB. Verifica-se que todas as três isotermas apresentam bons ajustes.

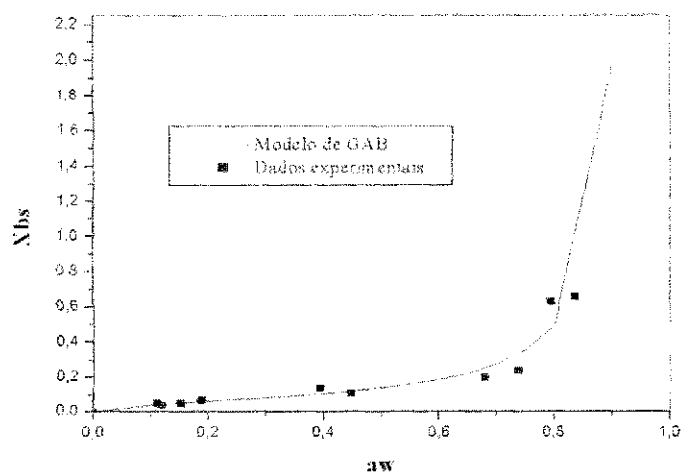


Figura 4.12 Isoterma de sorção da palma forrageira, na temperatura de 35^o C, ajustada pelo modelo de GAB.

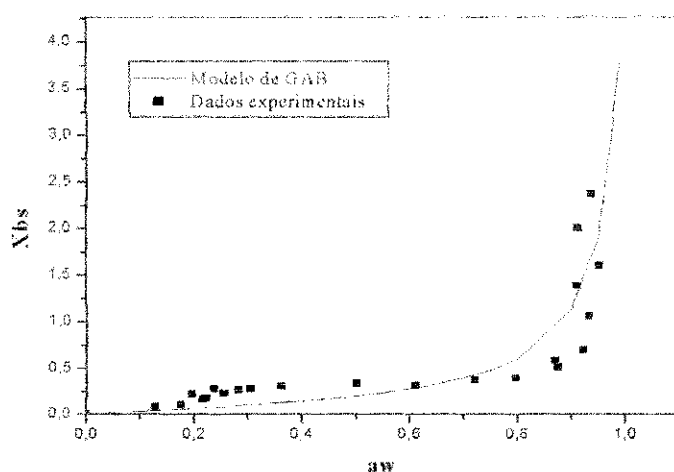


Figura 4.13 Isoterma de sorção da palma forrageira, na temperatura de 40^o C, ajustada pelo modelo de GAB.

A Figura 4.14 ilustra os ajustes das isotermas de sorção da palma forrageira, modelo de BET, facilitando a verificação da influência da temperatura. Observa-se que até a_w igual a 0,7 a isoterma de 40 passa abaixo da isoterma de 35, que está abaixo da isoterma de 30^oC.

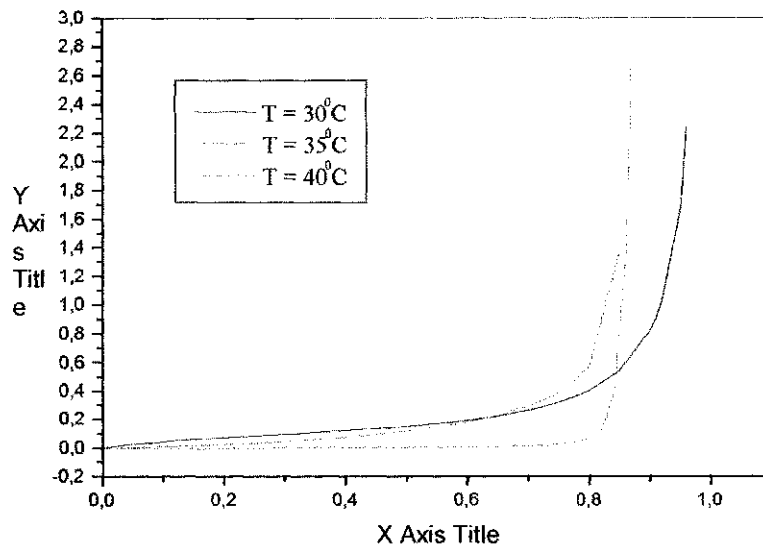


Figura 4.14 Isothermas de sorção da palma forrageira, modelo de BET.

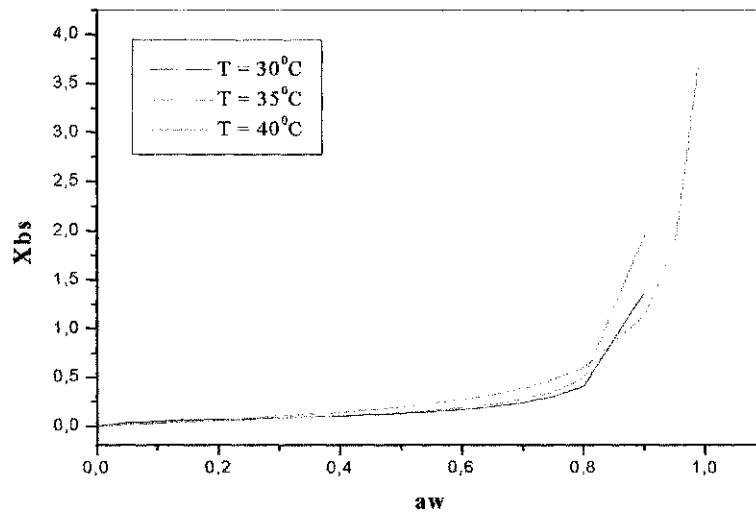


Figura 4.15 Isothermas de sorção da palma forrageira, modelo de GAB.

Com relação à Figura 4.15, que apresenta os ajustes das isothermas estudadas utilizando-se do modelo de GAB, pode-se notar o mesmo perfil observado para o mandacaru sem espinho quando os dados das isothermas foram modelados por GAB, ou seja, a isoterma de 40^oC sobrepondo-se as isothermas de 35 e 30^oC.

4.4 Considerações Gerais

A Tabela 4.5 apresenta valores de a_w mínima para o crescimento de alguns microrganismos. Abaixo deste valor, o crescimento da célula microbiana cessa.

Tabela 4.5 Atividade de água (a_w) mínima do crescimento de algumas células microbianas.

Microrganismo	a_w mínima de crescimento (valor médio)
Bactérias	0,91
Bactérias halófilas	0,75
Bolores (fungos)	0,80
Bolores xerófilos	0,65
Leveduras <i>Saccharomyces</i>	0,88
<i>S. cerevisiae</i>	0,89
Leveduras osmófilas	0,60

Fonte: SANTIN (1996)

Observa-se que para a levedura *Saccharomyces cerevisiae* a a_w mínima de crescimento está em torno de 0,89. Operando o processo de fermentação com o substrato abaixo de 0,89, o crescimento da levedura (inóculo utilizado no trabalho) é inibido, podendo não se desenvolver. Faixa ótima para o crescimento da levedura *Saccharomyces cerevisiae* está entre 0,9 e 0,99 da a_w do substrato (GOULD, 1989).

As Tabelas 4.6 e 4.7 apresentam os valores aproximados de X_{bs} para o mandacaru e a palma forrageira, respectivamente nas condições ótimas, para o metabolismo e crescimento da levedura, de operação do processo de enriquecimento protéico, tendo como referência à atividade de água acima de 0,9 (GOULD, 1989).

As Tabelas 4.8 e 4.9 apresentam os valores aproximados de X_{bs} para o mandacaru e a palma forrageira, respectivamente nas condições ótimas para a conservação do produto enriquecido (armazenamento), não se utilizando aditivos nem de refrigeração. A faixa ideal de atividade de água residual deve está

compreendida entre 0,25 a 0,35, desta forma, eliminando qualquer crescimento de microrganismos (SANTIN, 1996).

Tabela 4.6 Valores de X_{bs} obtidas através dos modelos de BET e GAB, correlacionando a_w acima de 0,9 para a cactácea mandacaru sem espinhos.

Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	X_{bs}	
	BET	GAB
30	-	acima de 1,00
35	acima de 1,40	acima de 1,00
40	acima de 1,40	acima de 1,00

Tabela 4.7 Valores de X_{bs} obtidas através dos modelos de BET e GAB, correlacionando a_w acima de 0,9 para a cactácea palma forrageira.

Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	X_{bs}	
	BET	GAB
30	acima de 1,00	acima de 1,20
35	acima de 1,40	acima de 1,50
40	acima de 2,00	acima de 1,50

Tabela 4.8 Valores de X_{bs} obtidas através dos modelos de BET e GAB, correlacionando a_w abaixo de 0,35, para a cactácea mandacaru sem espinhos.

Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	X_{bs}	
	BET	GAB
30	-	abaixo de 0,18
35	abaixo de 0,15	abaixo de 0,20
40	abaixo de 0,20	abaixo de 0,25

Tabela 4.9 Valores de X_{bs} obtidas através dos modelos de BET e GAB, correlacionando a_w abaixo de 0,35, para a cactácea palma forrageira.

Temperatura (°C)	X _{bs} (%)	
	BET	GAB
30	máximo de 0,18	máximo de 0,18
35	máximo de 0,10	máximo de 0,18
40	máximo de 0,10	máximo de 0,18

Para conseguir que os enriquecidos tenham atividades de água abaixo de 0,35, objetivando o seu armazenamento é necessário à utilização da operação unitária de secagem. É bom lembrar que de acordo com a literatura (DURAN, 1989 e HENIS, 1993), não se deve retirar água em quantidade inferior a monocamada, porque este é o limite de conservação dos nutrientes do alimento e há um dispêndio maior de energia para a sua eliminação. Assim, as isotermas estudadas das cactáceas fornecerão subsídios para estudo futuro da secagem do enriquecido (bioproduto). Então, os parâmetros dos modelos de BET e GAB são de vital importância no estudo de secagem.

4.5 Conclusões

– O modelo de GAB, em geral, ajustou melhores dados experimentais das isotermas nas temperaturas em estudo, para as duas cactáceas;

– Há aumentos na fração de umidade na base seca (X_{bs}), acima de 1, em atividades de água acima de 0,9, em geral, para todas as isotermas estudadas;

– Objetivando a conservação e manutenção da qualidade do enriquecido, é necessário apresentar no máximo de X_{bs} aproximadamente 0,18, que corresponde à umidade residual do enriquecido de 15% e atividade de água abaixo de 0,35 para as três temperaturas estudadas;

– Para estudos futuros de secagem e armazenamento, nos enriquecidos são de vital importância as isotermas levantadas e os parâmetros determinados neste estudo.

Resultados e Discussão**Estudo da Cinética da Fermentação Semi-Sólida do Enriquecimento Protéico das Cactáceas****5.1 Introdução**

O presente capítulo teve como objetivo apresentar os resultados do estudo da cinética do crescimento do microrganismo (levedura da espécie *Saccharomyces cerevisiae*) para o aumento do teor de proteína bruta das cactáceas mandacaru sem espinhos (*Cereus Jamacaru* P.DC) e da palma forrageira (*Opuntia ficus - indica* Mill), durante a fermentação em meio semi-sólido. Avaliando-se dessa forma o tempo necessário para obter o produto final com o maior teor de proteína bruta.

O estudo da cinética de crescimento do microrganismo teve como finalidade determinar o tempo necessário para maximizar o teor de proteína bruta das cactáceas, tempo ótimo que será fixado para o estudo seguinte (Capítulo 6).

5.2 Cinética da Fermentação Semi-sólida do Mandacaru sem Espinhos

A Tabela 5.1 apresenta as percentagens de proteína bruta na forma "in natura" e após o processo de enriquecimento protéico do mandacaru sem espinhos, utilizando a levedura da espécie *Saccharomyces cerevisiae*.

A Figura 5.1 ilustra o estudo cinético da fermentação semi-sólida objetivando determinar o tempo ideal de aumento protéico para o mandacaru sem espinhos, utilizando-se os dados da Tabela 5.1. Pode-se observar que a incubação teve um efeito rápido, sendo constatado aumento do teor de proteína bruta da cactácea em estudo, já às 6 horas de cultivo. O percentual inicial de proteína bruta do mandacaru sem espinhos, ou seja, na forma "in natura" é de 9,17% na base seca, aumentou gradativamente nos períodos de 6, 12, 24, 36 e

48 horas de incubação. Porém o prolongamento do período para 72 horas teve efeito negativo, resultando em acentuado decréscimo no teor protéico de 30,87 para 26,64% na base seca. Essa diminuição pode ser atribuída a uma provável volatilização do N_2 , produção de amônia e desnaturação da proteína celular do microrganismo.

Tabela 5.1 Valores dos teores de proteína bruta do mandacaru sem espinhos em períodos distintos de fermentação

Período de incubação (horas)	Proteína bruta (%)
0	9,17
6	17,24
12	19,39
24	21,57
36	30,35
48	30,87
72	26,64

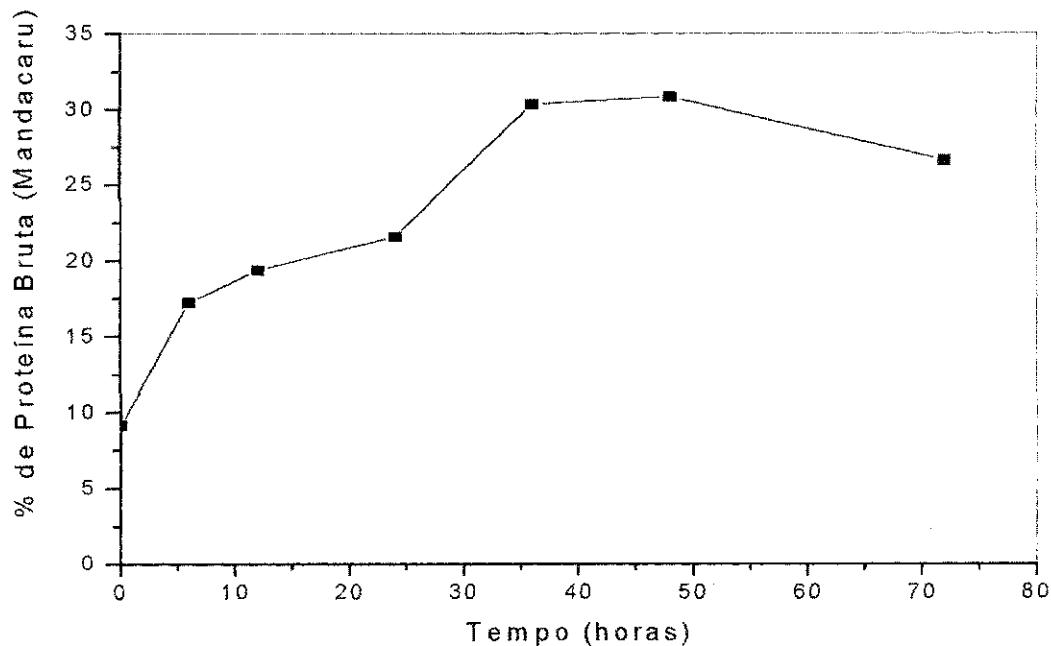


Figura 5.1 Cinética do aumento protéico do mandacaru sem espinhos, com Inóculo = 10%, Temperatura = 38 °C e Espessura da camada = 4 cm.

5.3 Cinética da Fermentação Semi-sólida da Palma Forrageira

A Tabela 5.2 apresenta as percentagens de proteína bruta da palma forrageira, na forma "in natura" e após o processo fermentativo em períodos distintos utilizando a levedura da espécie *Saccharomyces cerevisiae*.

Conforme os dados apresentados na Tabela 5.2 construiu-se o gráfico (Figura 5.2).

A Figura 5.2 ilustra a cinética do processo fermentativo do enriquecimento protéico, utilizando a palma forrageira como substrato. Verifica-se comportamento semelhante ao observado na cinética de fermentação do mandacaru sem espinhos.

Tabela 5.2 Valores dos teores de proteína bruta da palma forrageira em períodos distintos de fermentação

Período de incubação (horas)	Proteína bruta (%)
0	7,93
6	20,45
12	24,27
24	25,24
36	25,74
48	26,51
72	24,20

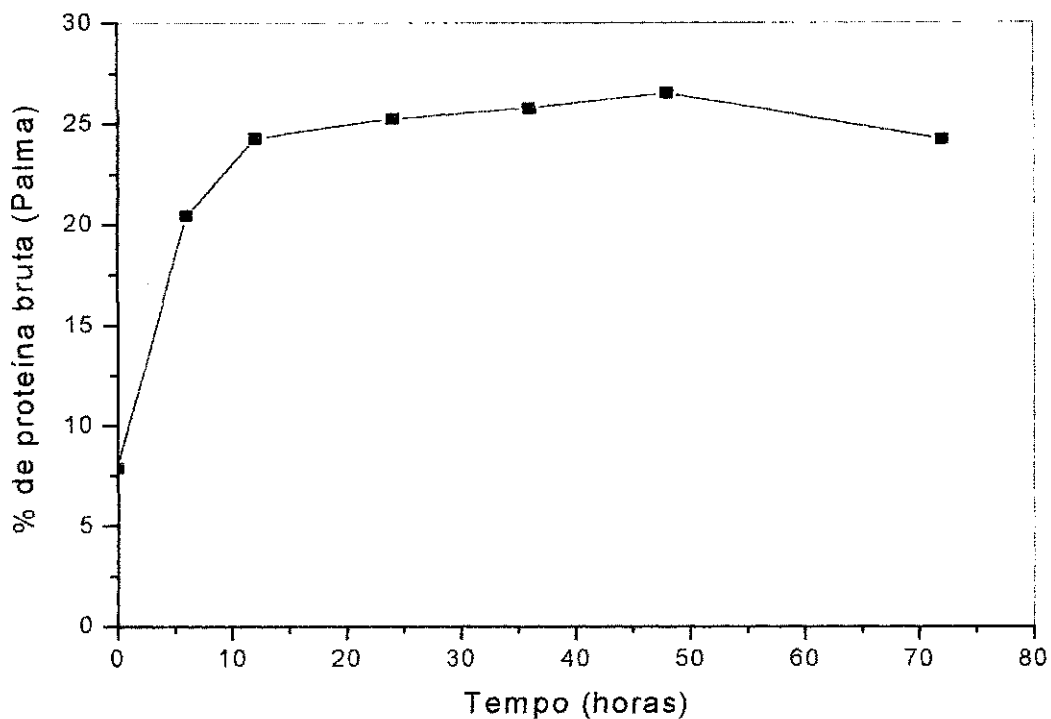


Figura 5.2 Cinética do aumento protéico da palma forrageira, com Inóculo = 10%, Temperatura = 38 °C e Espessura da camada = 4 cm.

O maior teor protéico observado para as cactáceas estudadas foi de 30,87 para o mandacaru e 26,51 para a palma no período de 48 horas, representando um incremento de 3 vezes o teor encontrado no substrato na forma "in natura". Estes valores são similares ou maiores que os teores dos concentrados convencionais, tais como concentrados de aveia esmagada (14,7%), farelo grosso de trigo (15,0%), torta de babaçu (20,5%), coco da Bahia prensado (21,2%), semente de algodão (23,1%), grãos de ervilha (23,4%), farelo de babaçu (24%) e farelo de aveia (25,8%), (NRC, 1989).

O processamento das cactáceas resultou em teores protéicos superiores ao nível de 8%, que constitui a exigência mínima dos microrganismos do rúmen animal (NRC, 1989).

5.4 Conclusões

Com o estudo da cinética do processo de enriquecimento protéico das cactáceas mandacaru sem espinhos e palma forrageira, nas condições de concentração inicial do inóculo (C) de 10%, temperatura (T) de 38⁰ C e espessura da camada de 4 cm, pode-se concluir que o tempo ideal de processo está em 48 horas.

Este tempo é de vital importância para fixação do período necessário para maximização dos teores protéicos, no estudo do próximo capítulo.

Estudo do Enriquecimento Protéico das Cactáceas

6.1 Introdução

No presente capítulo são apresentados os resultados e discussões da composição química e da digestibilidade “in vitro” da matéria seca das cactáceas mandacaru sem espinhos (*Cereus jamacaru* P.DC) e da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill), antes e após o enriquecimento protéico, utilizando a levedura da espécie *Saccharomyces cerevisiae*.

Segundo BARBOSA (1998), a análise dos alimentos corresponde a um conjunto de análises simples, reconhecidas e de aplicação universal. Apesar da sua simplicidade, os métodos oficiais devem ser utilizados com rigor e precisão. A amostragem constitui uma fase prévia, essencial para a análise de um alimento, sendo necessário que a amostra seja a mais representativa possível.

Numerosos fatores influem de alguma forma na composição química dos alimentos, em geral, sobre o valor nutritivo. Alguns fatores correspondentes ao meio ambiente como: o solo e o clima, enquanto outros fatores estão relacionados com as características da planta, variedade, estado de crescimento, desenvolvimento e ciclo vegetativo. Do ponto de vista bromatológico, o valor nutritivo de uma planta forrageira depende da concentração da proteína bruta, fibra bruta, extrato etéreo, extrato não nitrogenado, minerais e vitaminas. Atualmente os pesquisadores da área de alimentação animal dão mais ênfase nas determinações de proteína bruta, proteína verdadeira, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, energia bruta e matéria orgânica, pois estes teores na composição química dos alimentos determinam melhor a qualidade da ração. Pode-se citar como exemplo, SILVA (1998), na determinação da fibra, que atualmente prefere analisar FDA e FDN em detrimento á determinação de fibra bruta, porque a determinação de FDA e FDN permite melhor fracionamento dos

diversos componentes da fração fibrosa. Pelo exposto, a avaliação da composição química dos alimentos, constitui o ponto de partida para a identificação do seu valor nutritivo, servindo de suporte para elaboração de um plano de alimentação que atenda as exigências nutricionais e possibilite um desenvolvimento satisfatório dos animais.

De acordo com SILVA (1998), os coeficientes de digestibilidade usados na avaliação dos alimentos, podem ser influenciados por uma série de fatores dentre estes o mais importante é a presença de outros ingredientes na ração. O efeito associativo de ingredientes numa dieta alimentar, pode mostrar porque certos alimentos com diferentes teores de determinados nutrientes podem ter maior ou menor grau de digestão. Este fator é referido como o efeito da composição química sobre a digestibilidade.

O objetivo principal deste estudo com o mandacaru sem espinhos e a palma forrageira foi estudar o processo fermentativo e avaliar a influência de três variáveis de entrada: concentração inicial do inóculo (C), temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre os valores das variáveis respostas: matéria seca (MS), proteína bruta (PB), aumento da percentagem do teor de proteína bruta (APB), proteína verdadeira (PV), aumento da percentagem do teor de proteína verdadeira (APV), fibra em detergente neutro (FDN)), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose (HC), energia bruta (EB), matéria orgânica (MO) e digestibilidade "in vitro" da matéria seca (DIVMS). Essa preocupação em conhecer não apenas os principais nutrientes que compõem estas forragens, mas também da digestibilidade "in vitro" da matéria seca, se deve ao fator de não apenas verificar o total de nutrientes que as compõem, mas pelas quantidades deles que o animal pode digerir, assimilar e utilizar (JARDIM, 1976). Para comparar os resultados obtidos da composição química e digestibilidade "in vitro" da matéria seca das cactáceas em estudo, utilizou-se como ferramenta a metodologia de planejamento fatorial e análise de superfície de resposta, buscando valores de respostas otimizadas, fornecendo dados estatísticos que serviram para análises mais precisas e mais detalhadas dos resultados.

Em todo o estudo das influências das variáveis de entrada sobre o processo, referi-se ao aumento do percentual das 11 respostas em estudo, em relação ao substrato "in natura" e não ao aumento de massa ou correlatos.

6.2 Estudo da Composição Química e da Digestibilidade “in vitro” da Matéria Seca do Mandacaru sem Espinhos na Forma “in natura” e Após Enriquecimento Protéico

A Tabela 6.1 apresenta os valores da composição química e digestibilidade “in vitro” da matéria seca do mandacaru sem espinhos na forma “in natura” e após o enriquecimento protéico utilizando a levedura da espécie *Saccharomyces cerevisiae* em fermentação semi-sólida.

BARROS NETO et al. (1996), afirmam que na análise de variância de um modelo matemático, uma parte da variação total das observações em torno da média é descrita pela equação de regressão, enquanto que o restante faz parte dos resíduos, assim quanto maior for a fração descrita pela regressão, ou seja, quanto mais próximo de 1 for o valor de R^2 (coeficiente de variação explicada), melhor será o ajuste do modelo aos dados observados. Com relação a outro parâmetro importante na verificação de significância estatística da regressão (modelo codificado), BARROS NETO et al. (1996), afirmam que o modelo é estatisticamente significativo se o $F_{\text{calculado}}$ for maior que o F_{tabelado} ao nível de confiança estipulado. Quando o valor de $F_{\text{calculado}}$ for mais que seis vezes o F_{tabelado} , o modelo além de ser estatisticamente significativo ele é preditivo.

6.2.1 Análise da Regressão dos Modelos Codificados

Foi feita uma regressão linear dos dados experimentais para cada resposta, utilizando-se do programa computacional STATISTICA versão 5.0. Dessa maneira, encontraram-se os coeficientes dos modelos, apresentados na Tabela 6.2.

A Tabela 6.2 apresenta o modelo ajustado linearmente juntamente com os parâmetros estatísticos, coeficientes de variação (R^2) e a razão $F_{\text{calculado}} / F_{\text{tabelado}}$.

Observando a Tabela 6.2, verifica-se que todos os 11 modelos lineares codificados das respostas estudadas são estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança. As equações de respostas: matéria seca (MS), proteína bruta (PB), Aumento de proteína bruta (APB), proteína verdadeira (PV), aumento

de proteína verdadeira (APV), fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN), hemicelulose (HM), além de apresentarem ótimos valores de percentagem de variação explicável (R^2), apresentam valores elevados da razão $F_{\text{calculado}} / F_{\text{tabelado}}$, demonstrando que estes modelos são altamente preditivos.

Os modelos codificados das respostas: energia bruta (EB), matéria orgânica (MO) e digestibilidade "in vitro" da matéria seca (DIVMS) apresentam valores razoáveis de R^2 e da razão $F_{\text{calculado}}/F_{\text{tabelado}}$. Desta forma, os modelos são estatisticamente significativos, mas apresentam significativos valores de resíduo (erros), fazendo com que os modelos não sejam adequados para fins de predição.

Tabela 6.1 Valores da composição química e digestibilidade “in vitro” da matéria seca do mandacaru sem espinhos (*Cereus jamacaru* P.DC) na forma “in natura” e enriquecida com levedura, com base no teor de matéria seca

ENSAIOS	MS (%)	PB (%)	APB (%)	PV (%)	APV (%)	FDA(%)	FDN (%)	HC(%)	EB (cal/g)	MO (%)	DIVMS (%)
“in natura”	10,85	9,17	–	5,65	–	15,4	35,13	19,73	3,523	89,36	69,99
1	11,67	22,63	165,4	9,86	87,7	24,13	48,87	24,74	3,956	88,59	81,17
2	14,57	29,59	333,3	12,71	202,1	23,22	40,77	17,55	4,781	81,84	99,30
3	12,99	20,59	168,8	10,95	132,0	26,63	52,57	25,94	3,791	88,34	88,07
4	16,52	25,40	312,7	13,95	275,9	22,22	41,30	19,08	4,156	81,34	99,45
5	11,08	23,43	160,9	10,00	80,8	24,51	55,40	30,89	3,989	88,76	81,54
6	15,55	25,19	293,7	13,20	234,8	20,51	39,25	18,74	4,230	84,63	97,59
7	11,91	20,78	148,7	10,05	95,3	25,10	52,28	27,18	3,818	88,68	87,43
8	16,03	26,25	322,9	14,10	268,7	20,34	39,26	18,92	4,311	83,80	97,76
9	13,80	24,08	238,8	12,04	171,0	23,67	46,52	22,85	3,969	87,45	96,05
10	13,75	23,99	231,5	11,98	168,7	23,90	47,04	23,14	3,979	87,72	96,13
11	13,85	24,14	238,0	12,00	171,1	23,92	46,87	22,95	3,987	87,58	96,23

Valores em **negrito**: Expressos na matéria “in natura”

Valores em escrita clara: expressos na matéria processada

Tabela 6.2 Modelos da regressão linear codificado para as variáveis respostas de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), aumento da percentagem de proteína bruta (APB), proteína verdadeira (PV), aumento da percentagem da proteína verdadeira (APV), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose (HM), energia bruta (EB), matéria orgânica (MO) e digestibilidade "in vitro" do mandacaru sem espinhos após enriquecimento protéico, com base no teor de matéria seca

Variável	Modelos empíricos codificados	R ²	F _{cal} /F _t
MS(%)	13,79 + 1,87C + 0,57T + 0,15E + 0,27CE - 0,24TE - 0,12CTE	0,999	231,85
PB (%)	24,18 + 2,37C - 0,27T - 0,32E + 0,19CT - 0,56CE - 0,58TE + 0,73CTE	0,993	125,51
APB (%)	237,9 + 78,5C - 7,87E + 7,05CTE	0,995	96,65
PV (%)	11,89 + 1,64C + 0,41T + 0,17CE - 0,17TE	0,998	145,83
APV (%)	171,65 + 73,21C + 20,81T - 2,26E + 6,11CT + 8,64CE - 8,71TE	0,999	79,38
FDN (%)	46,37 - 6,07 - 1,23CE - 0,92TE + 0,79CTE	0,994	163,7
FDA (%)	23,47 - 1,76 - 0,72E - 0,53CT	0,983	31,69
HC (%)	22,9 - 4,31C + 1,1E + 0,53CT - 0,79CE - 0,78TE + 0,45CTE	0,999	71,13
EB cal/g	4.088 + 240,5C - 110,0T - 42E - 26CT - 57CE + 87,5TE + 89CTE	0,936	6,87
MO (%)	86,25 - 2,85C - 0,21T + 0,72E + 0,59 CE	0,905	3,2
DIVMS (%)	92,79 + 6,98C + 1,64T - 0,46E - 1,56CT - 0,39CE	0,903	1,86

6.2.2 Otimização das Variáveis de Entrada do Processo de Enriquecimento Protéico do Mandacaru sem Espinhos

6.2.2.1 Análise de Superfície de Resposta para a Variável Matéria Seca (MS) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura

A Figura 6.1 apresenta a superfície de resposta que relaciona as variáveis independentes (concentração do inóculo e temperatura) em relação à resposta: teor de matéria seca do mandacaru sem espinhos após o processo. Verifica-se que a concentração inicial do inóculo e temperatura apresentam influências positivas, ou seja, quando passam do nível inferior -1 para o nível superior +1, ocorre aumento na percentagem do teor de matéria seca (MS). Pode-se notar que a variável C, dentre as duas variáveis de entrada, apresenta maior efeito sobre a variável resposta estudada (MS), observando-se uma queda acentuada na concentração da (MS) com a sua diminuição (inclinação da superfície de resposta sendo influenciada pela variação de C). Fixando a concentração do inóculo acima de 10%, com temperatura acima de 34 °C obtém-se concentração de matéria seca acima de 15%.

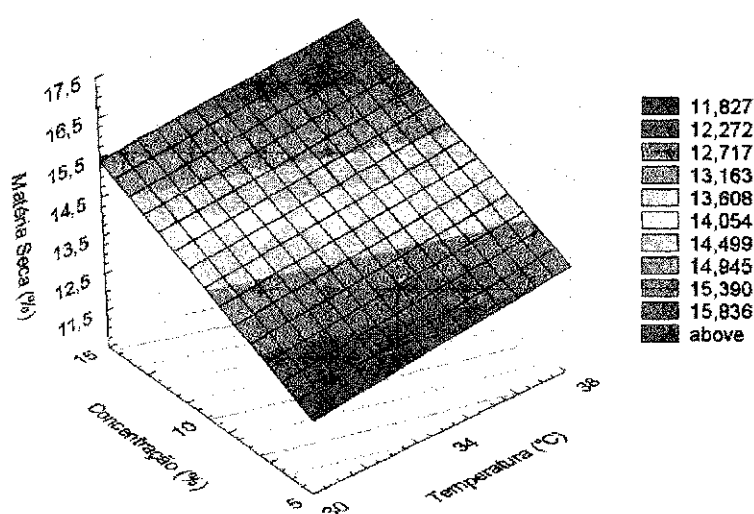


Figura 6.1 Influência das variáveis de entrada concentração inicial do inóculo (C) e temperatura (T) sobre o teor de massa seca do mandacaru sem espinhos,

fixando-se a espessura da camada (E) no ponto central (4cm).

Na Figura 6.2 observam-se os efeitos das variáveis de entrada espessura da camada e temperatura sobre o teor de matéria seca. Verifica-se que a espessura da camada e a temperatura apresentam influências positivas, ou seja, quando passa do nível -1 para o nível +1 ocorre maior concentração do teor de matéria seca. Sendo a interação entre T e E negativa e o valor do efeito primário de E pequeno. Quando fixa-se a espessura da camada acima de 4% e a temperatura acima de 34 °C, obtém-se concentração de matéria seca (MS) acima de 14%.

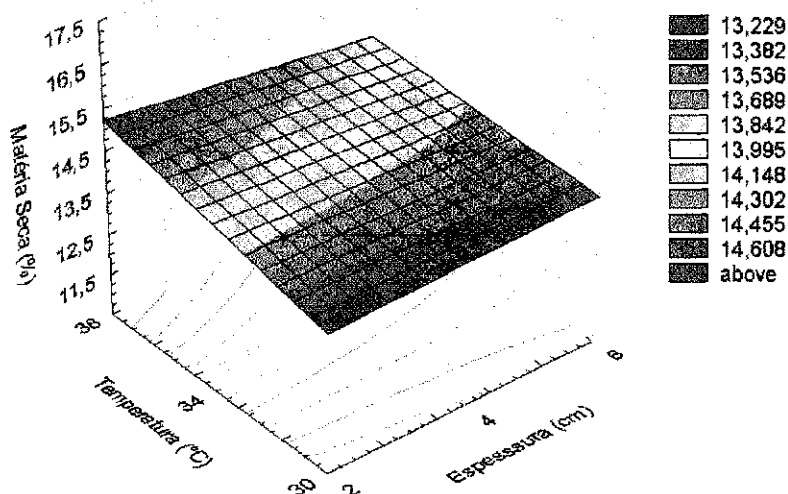


Figura 6.2 Influência das variáveis de entrada espessura da camada (E) e temperatura (T) sobre o teor de matéria seca do mandacaru sem espinhos, fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) no ponto central (10%).

A Figura 6.3 ilustra os efeitos das variáveis de entrada concentração do inóculo e espessura da camada sobre a resposta: percentagem do teor de matéria seca. Verifica-se que o efeito da variável (C) é bem superior ao efeito da variável (E) sobre a MS. Quando se opera com a concentração do inóculo acima de 10%, em qualquer espessura da camada, obtém-se uma concentração do teor de matéria seca (MS) acima de 15%.

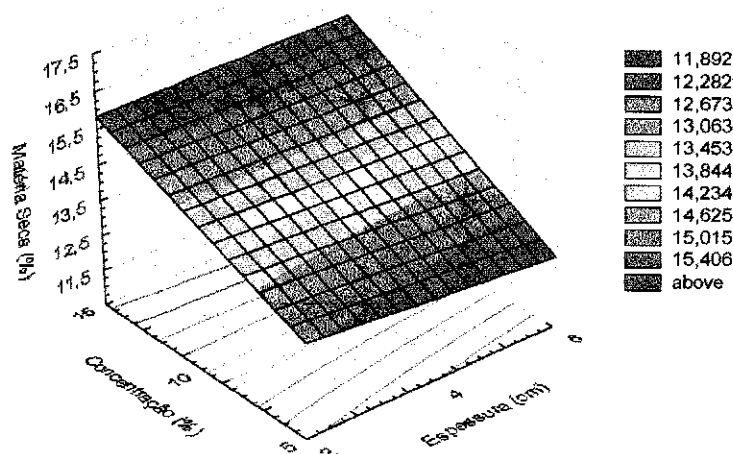


Figura 6.3 Influência das variáveis de entrada concentração inicial do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre o teor de matéria seca do mandacaru sem espinhos, fixando-se a temperatura (T) no ponto central (34 °C).

Analisando as três superfícies de resposta, conclui-se que o maior valor de percentagem de matéria seca obtida para o mandacaru sem espinhos, após o enriquecimento protéico, foi acima de 16% quando se opera com concentração inicial do inóculo fixando em 15%, temperatura acima de 34°C e espessura da camada abaixo de 4cm. A Figura 6.4 apresenta a superfície de resposta onde a concentração inicial de inóculo (C) está no nível superior (15%). Esta figura facilita a observação das faixas ótimas para maximização do percentual de matéria seca após processo de enriquecimento protéico.

Através da otimização do processo o mandacaru sem espinhos enriquecido proteicamente apresentou teor médio de matéria seca variando de 11,08 a 16,5, superando o valor do teor de matéria seca desta cactácea na forma "in natura" correspondente a 10,85%. Ou seja, houve formação de CO₂ e evaporação de H₂O que faz com que a massa do fermentado diminua e conseqüentemente aumente a concentração da matéria seca (houve concentração de massa no material fermentado em relação ao material na forma "in natura")

Conforme as normas exigidas pela NRC (1989), um animal jovem em pleno crescimento, com peso entre 90 e 200 Kg, consome em média 2,7 Kg de matéria seca por 100Kg de peso vivo. No caso das cactáceas, com alto teor de umidade,

são consumidas em maiores quantidades, chegando a um consumo de 3,0 a 3,5 do peso vivo. Uma vaca de 450 Kg de peso vivo consome diariamente em média, 63 Kg de pasto verde com 12% de matéria seca. O mandacaru sem espinhos após o processo apresentou valores de matéria seca similar e maior aos recomendados pelas normas de alimentação proposta pela NRC (1989), pois seu teor de matéria seca apresenta valor até 16,5%. Com maior concentração do teor de matéria seca no produto final espera-se que a utilização do mesmo na dieta dos animais venha atender em parte as necessidades nutritivas do rebanho na época de escassez de alimentos.

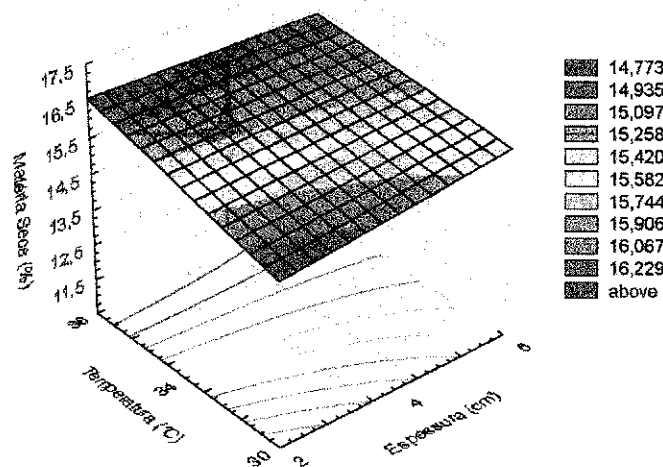


Figura 6.4 Efeito de temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o teor de matéria seca do mandacaru sem espinhos, fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) no nível +1 (15%).

6.2.2.2 Análise de Superfície de Resposta para a Variável Proteína Bruta (PB) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura

Conforme ilustra a Figura 6.5 observa-se que a concentração inicial do inóculo (C) apresentou influência positiva e a temperatura (T) negativa, sobre a variável resposta proteína bruta (PB). Verifica-se que a influência da concentração do inóculo é maior (cerca de 10 vezes) do que da temperatura. Fixando-se a concentração inicial do inóculo acima de 10% e a temperatura numa faixa acima

de 34°C, obtém-se teores de proteína bruta acima 24 %.

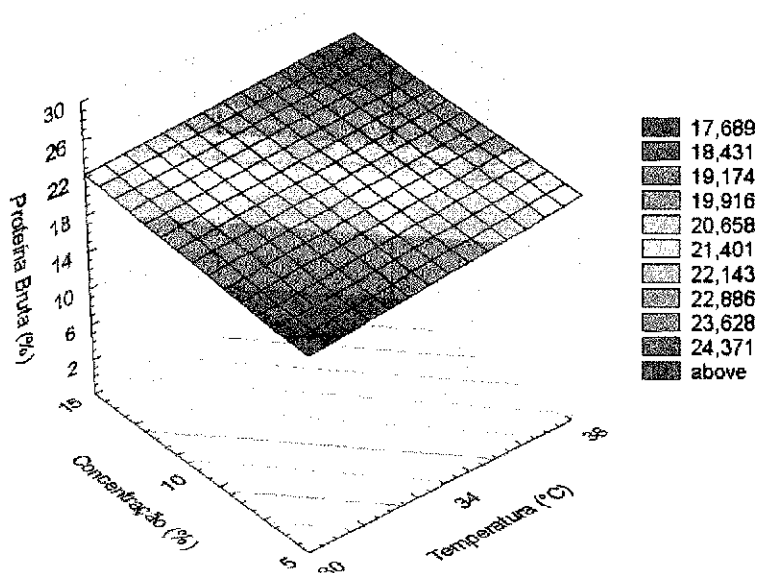


Figura 6.5 Influência das variáveis de entrada concentração inicial do inóculo (C) e temperatura (T) sobre o teor de proteína bruta do mandacaru sem espinhos, fixando-se a espessura da camada (E) no ponto central (4 cm).

Através da Figura 6.6 verifica-se que a concentração inicial do inóculo (C) apresentou influência positiva e maior do que a influência da variável de entrada espessura da camada (E) sobre a variável resposta proteína bruta (PB). Verifica-se este fato quando se fixa a concentração inicial do inóculo também acima de 10%, e a espessura da camada fixada acima de 4 cm, obtém-se teor de proteína bruta acima de 23%.

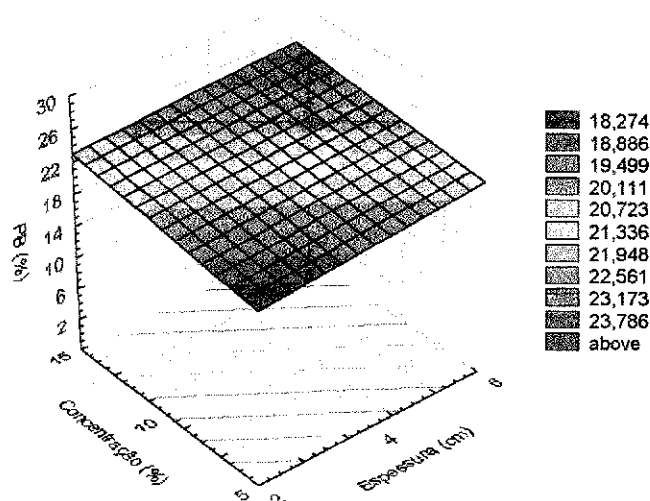


Figura 6.6 Influência das variáveis de entrada concentração inicial do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre o teor de proteína bruta do mandacaru sem espinhos, fixando-se a temperatura (T) no ponto central (34°C).

A Figura 6.7 ilustra a influência das variáveis de entrada temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre a percentagem do teor de proteína bruta. Ao fixar-se a temperatura acima de 34°C e a espessura da camada acima de 4cm, obtém-se percentagem de proteína bruta acima de 23%.

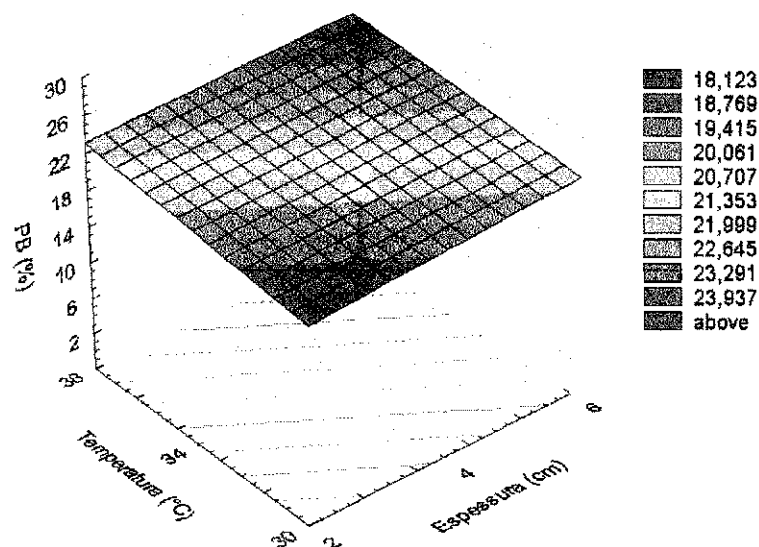


Figura 6.7 Influência das variáveis de entrada temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o teor de proteína bruta do mandacaru sem espinhos, fixando-se a concentração inicial de inóculo (C) no ponto central (10%).

Observando a Figura 6.8, que apresenta a superfície da resposta com a variável concentração no nível superior (+1) que resume a análise das três superfícies de resposta anteriormente, verificam-se os maiores valores para os teores de proteína bruta (PB), acima de 28% quando se opera em concentração inicial do inóculo fixando em 15%, temperatura abaixo de 34°C e espessura abaixo de 4cm.

Na Figura 6.8 o mandacaru sem espinhos após o enriquecimento protéico utilizando a levedura, obteve um aumento protéico de mais de 3 vezes do que na forma "in natura" (9,17%). Verifica-se que este valor da proteína bruta no substrato "in natura" do mandacaru sem espinhos é menor do que o encontrado por BRAGA (1960) valor correspondente a 10,72%. ARAÚJO (2001), em pesquisa realizada com o mandacaru sem espinhos, em quatro espaçamentos distintos obteve valores de proteína bruta variando de 4,12 a 10,9%. Valores bem inferiores aos encontrados nas condições deste trabalho, para a cactácea da mesma espécie quando enriquecida com proteína microbiana, confirmando o crescimento do microrganismo inoculado na cactácea. Comparando-se os teores

de proteína bruta da cactácea estudada nesta pesquisa, com valores dos teores do mesmo nutriente encontrados no seu similar mandacaru com espinhos conforme a literatura consultada (GERMANO, 1991; ARAÚJO, 1994; BARBOSA, 1998), observa-se que o enriquecimento protéico é mais de 3 vezes superior aos valores "in natura" encontrados pelos pesquisadores que foram: 10,18; 7,22 e 9,3%, respectivamente.

De acordo com o teor de proteína bruta adquirido pelo mandacaru sem espinhos, após o processo de enriquecimento protéico, o mesmo está dentro das normas de alimentação recomendadas pela NRC (1989). Desta maneira, o bioproduto pode ser utilizado na época de escassez de alimentos suplementando proteicamente a dieta das diversas categorias de animais como: crias recém desmamadas, fêmeas secas e em lactação que necessitam de 16 a 24% de proteína bruta, considerando os requisitos de manutenção e produção.

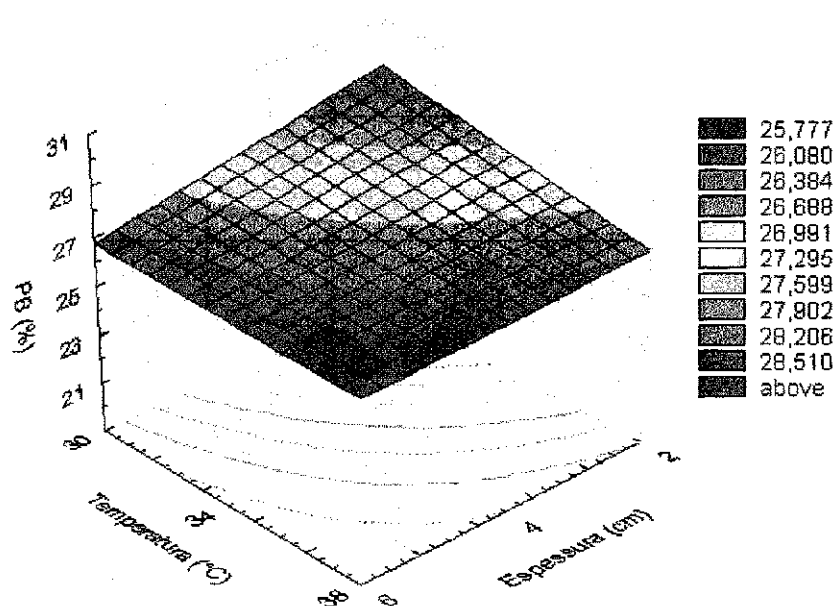


Figura 6.8 Efeitos de temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o teor de proteína bruta do mandacaru sem espinhos, fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) no nível +1 (15%).

6.2.2.3 Análise da Superfície de Resposta para a Variável Aumento da Percentagem do Teor de Proteína Bruta (APB) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura

Observa-se na Figura 6.9, que a concentração inicial do inóculo (C) apresenta um efeito positivo na resposta em estudo também verificado na análise de percentagem da PB. O efeito da variável temperatura (T) não apresenta influência na análise da resposta. Observa-se ainda que fixando-se a concentração acima de 10% em qualquer faixa de temperatura obtém-se um expressivo aumento na percentagem de proteína bruta acima de 300%.

Em função de ocorrerem variações na percentagem de matéria seca (MS) no decorrer do processo de enriquecimento protéico, foi introduzida a definição da percentagem de aumento protéico da proteína bruta (APB). Esta resposta apresenta quantitadamente não só o percentual de PB, mas a concentração da matéria seca na massa, conseqüentemente aumento do percentual do teor protéico no bioproduto. A Equação 3.2 mostra o modelo utilizado para o cálculo de percentual de APB.

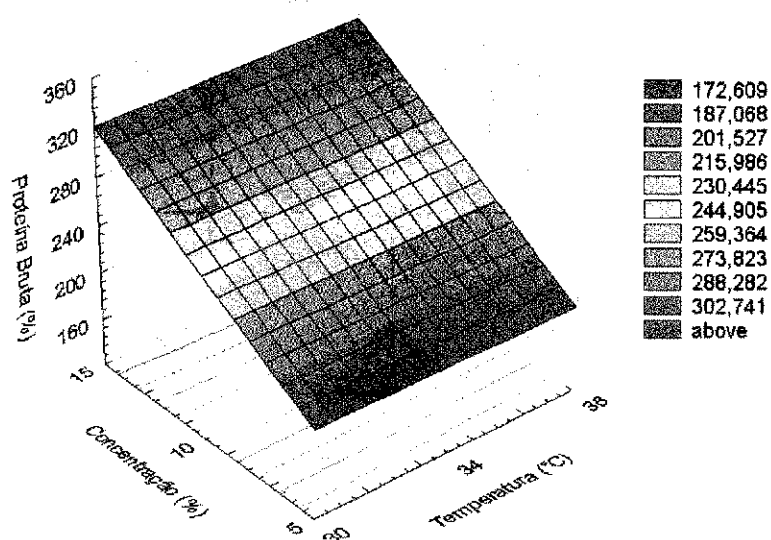


Figura 6.9 Influência das variáveis de entrada concentração inicial do inóculo (C) e temperatura (T) sobre o aumento da porcentagem do teor de proteína bruta do mandacaru sem espinhos, fixando-se a espessura da camada (E) no ponto central (4 cm).

A Figura 6.10 mostra a influência da concentração inicial do inóculo (C) e a variável espessura sobre a resposta (APB). A espessura da camada (E), apresenta pequeno efeito. Fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) acima de 10% e espessura da camada abaixo de 4 cm, obtém-se resposta acima de 307%.

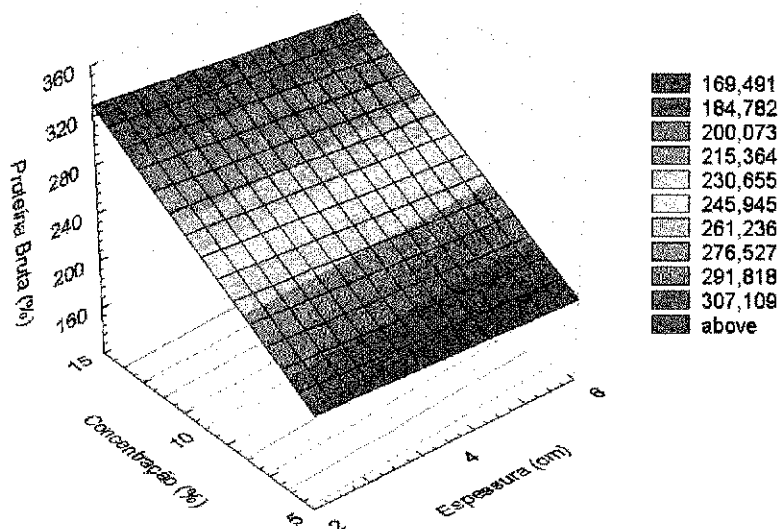


Figura 6.10 Influência das variáveis de entrada concentração inicial do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre o aumento da porcentagem do teor de proteína bruta (APB) do mandacaru sem espinhos, com a temperatura (T) fixada no ponto central (34 °C).

A Figura 6.11 relaciona o efeito das variáveis temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre a resposta: aumento da porcentagem de proteína bruta, fixando-se a concentração inicial do inóculo no nível 0 (10%). Observa-se que podem ser atingindo valores de APB aproximadamente de 250%, para qualquer

valor de temperatura, operando com espessura abaixo de 4 cm.

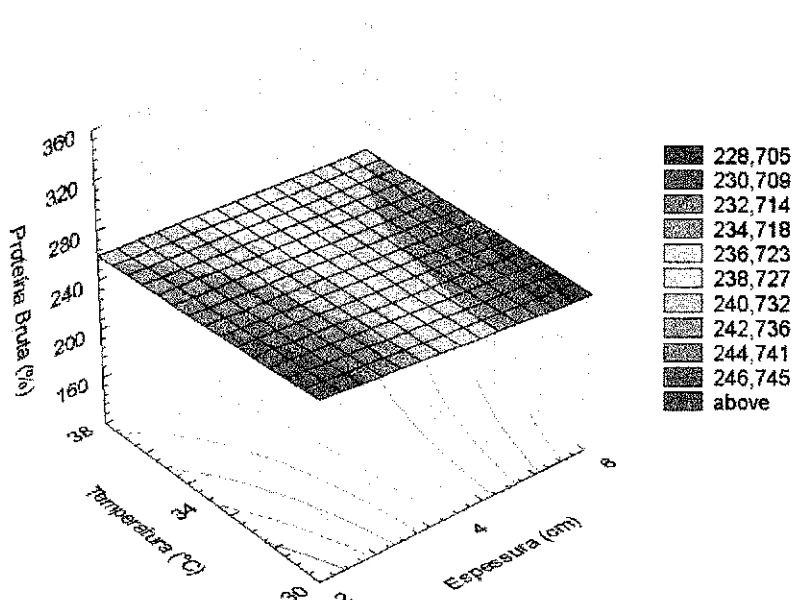


Figura 6.11 Influência das variáveis de entrada temperatura (T) e da espessura da camada (E) sobre o aumento da porcentagem do teor de proteína bruta do mandacaru sem espinhos, com concentração inicial do inóculo (C) fixada em 10% (ponto central).

A Figura 6.12 apresenta a concentração inicial do inóculo fixada no valor ótimo para maximização de resposta (15%). Conclui-se que o maior valor do aumento da porcentagem da proteína bruta para o mandacaru sem espinhos, após o enriquecimento protéico, é acima de 320%, quando se opera com uma concentração inicial do inóculo em 15%, em uma faixa de temperatura qualquer e espessura da camada menor que 4cm.

Os elevados aumentos na porcentagem do teor protéico da cactácea em estudo, atendem ao objetivo do trabalho, ou seja, produzir uma suplementação protéica que possa substituir os concentrados utilizados convencionalmente na ração animal, em época crítica do ano na região Semi-Árida.

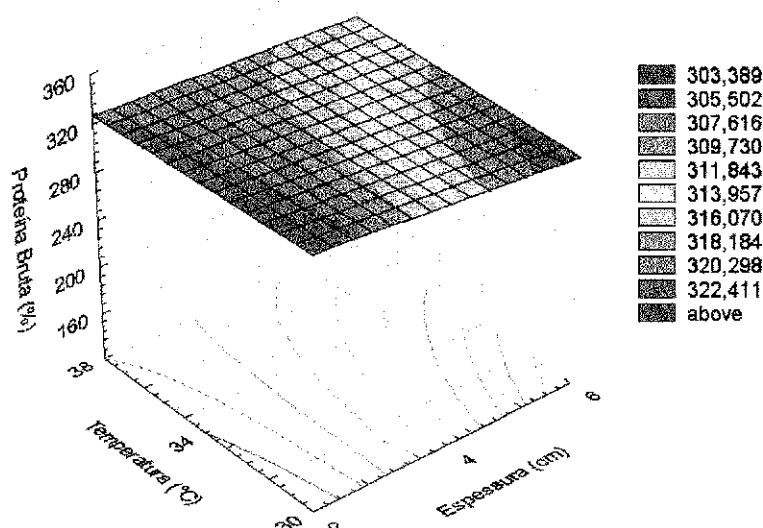


Figura 6.12 Efeitos de temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o aumento da percentagem do teor de proteína bruta do mandacaru sem espinhos, fixando-se a concentração inicial do inóculo no nível +1 (15%).

6.2.2.4 Análise da Superfície de Resposta para a Variável Proteína Verdadeira (PV) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura

A Figura 6.13 apresenta a superfície de resposta mostrando as influências das relações dos fatores (concentração inicial do inóculo e temperatura) sobre a resposta: teor de proteína verdadeira. Fixando-se a concentração inicial do inóculo acima de 10% e mantendo a temperatura acima de 34°C, obtém-se teor de proteína verdadeira em torno de 12%.

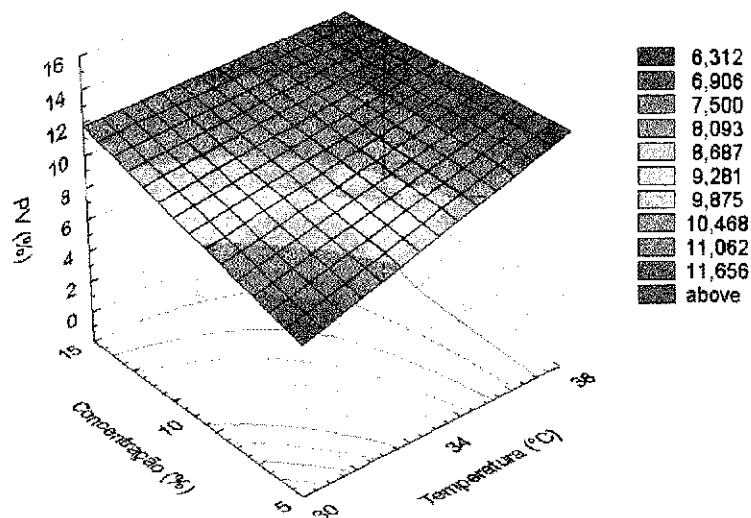


Figura 6.13 Influência das variáveis da concentração inicial do inóculo (C) e a temperatura (T) sobre o teor de proteína verdadeira do mandacaru sem espinhos, com a espessura da camada (E) fixada no ponto central (4cm).

A Figura 6.14 apresenta a superfície de resposta que relaciona os efeitos (concentração inicial do inóculo e a espessura da camada) em relação á resposta: teor de proteína verdadeira. Verifica-se que com a concentração inicial do inóculo acima de 10% e espessura da camada maior que 4cm, consegue-se teor de proteína verdadeira de aproximadamente 11,5%.

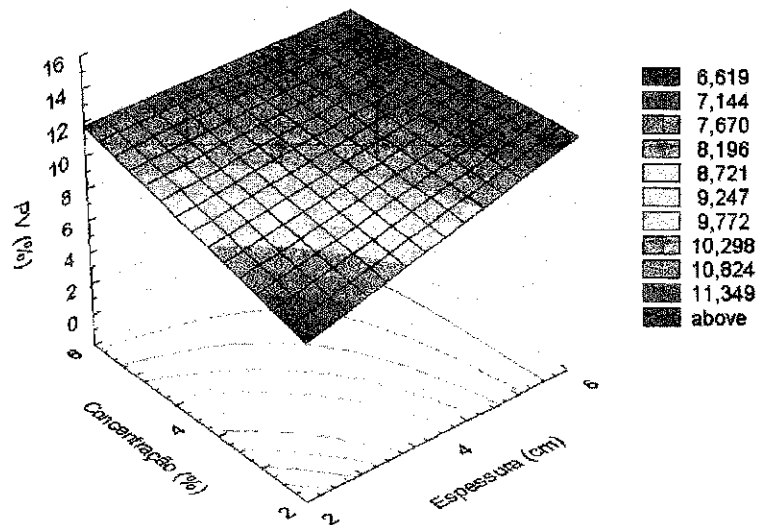


Figura 6.14 Influência da concentração inicial do inóculo (C) e da espessura da camada (E) sobre o teor de proteína verdadeira do mandacaru sem espinhos, com temperatura (T) fixada no ponto central (34°C).

Na Figura 6.15 está apresentada a superfície de resposta que relaciona os efeitos (temperatura e espessura da camada) em relação ao teor de proteína verdadeira. Quando a temperatura está acima de 34°C e a espessura da camada superior a 4cm, a percentagem do teor de proteína verdadeira é de aproximadamente 12%.

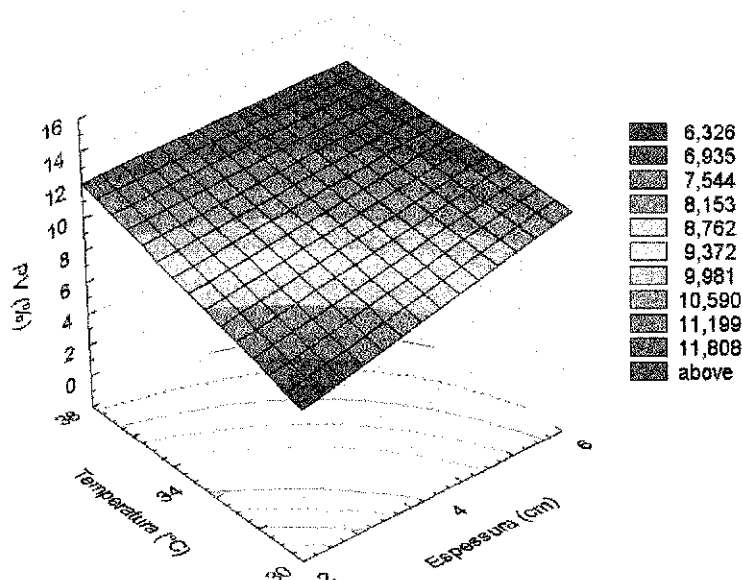


Figura 6.15 Influência da temperatura (T) e da espessura da camada (E) sobre o teor de proteína verdadeira do mandacaru sem espinhos, fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) no ponto central (10%)

Para facilitar a observação de valores ótimos de operação das variáveis de entrada, construiu-se a Figura 6.16 que apresenta a influência das variações T e E sobre a proteína verdadeira (PV), fixando a concentração inicial no nível superior (15%). Verifica-se que a influência da temperatura foi bastante expressiva quando se fixou a concentração inicial do inóculo em nível +1 correspondente a 15% e em faixa de temperatura superior a 34°C e espessura da camada acima de 4cm, obtém-se teores de proteína verdadeira acima de 12%.

Pode-se observar que a porcentagem de proteína verdadeira do mandacaru sem espinhos enriquecido com levedura foi mais que o dobro do teor deste nutriente na cactácea em estudo na forma "in natura" correspondente a 5,65%. Resultado bastante relevante para o emprego em vacas leiteiras que necessita de grandes quantidades de proteína verdadeira para produção do leite.

Os teores de proteína verdadeira do mandacaru sem espinhos enriquecido com levedura nas condições deste trabalho variaram de 9,8 a 14,1% na base da matéria seca. Estes valores estão de acordo com as normas do NRC (1989), afirmando que conforme as normas de alimentação do gado leiteiro, vacas consumindo ração de manutenção rica (pasto, silagem ou feno) exigem uma suplementação contendo de 12 a 14% de proteína bruta ou 10 a 11,5% de

proteína verdadeira. Em resumo, o mandacaru sem espinhos enriquecido com proteína microbiana (levedura) poderá incrementar a dieta alimentar de várias categorias de animais da região.

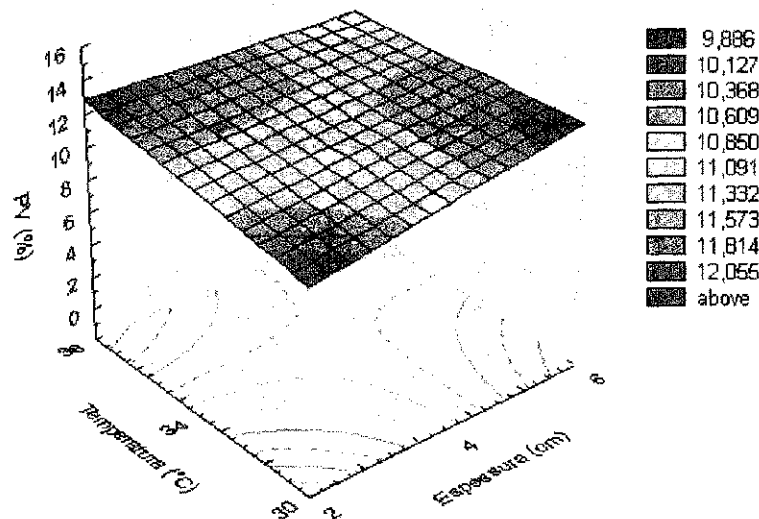


Figura 6.16 Efeitos de temperatura e espessura sobre o teor de proteína verdadeira do mandacaru sem espinhos, fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) no nível +1 (15%).

6.2.2.5 Análise da Superfície de Resposta para a Variável Aumento da Percentagem de Proteína Verdadeira (APV) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura

Tendo o mesmo objetivo de percentagem de APB, a resposta da percentagem de APV está definida na Equação 3.3 (Cap. 3). Na Figura 6.17 observa-se que a variável concentração inicial do inóculo (C) apresenta um efeito positivo na resposta: aumento da percentagem da proteína verdadeira, ou seja, quando há aumento da concentração do inóculo do nível -1 para o nível +1, ocorre um aumento relevante na percentagem de proteína verdadeira. Quando se fixa a concentração inicial do inóculo maior que 10% em uma faixa de temperatura qualquer, obtém-se um aumento na percentagem da proteína

verdadeira acima de 250%. O mesmo perfil foi observado para as respostas analisadas anteriormente: % PB, % PV, % APB.

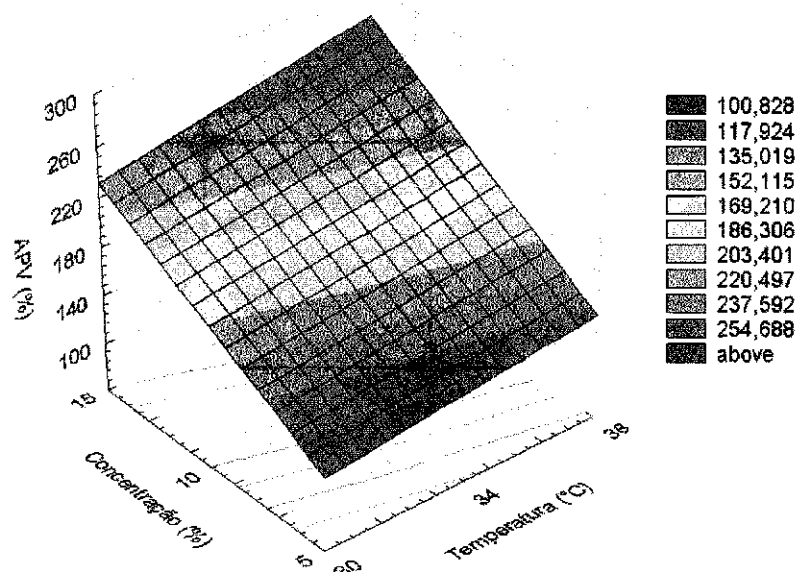


Figura 6.17 Influência da temperatura (T) e concentração inicial do inóculo (C) sobre o aumento da percentagem de proteína verdadeira (APV) do mandacaru sem espinhos, com espessura da camada (E) de 4 cm.

Na Figura 6.18 mostra a superfície de resposta relacionando as variáveis de entrada (concentração inicial do inóculo e espessura da camada). Observa-se que fixando a concentração inicial do inóculo acima de 10%, em qualquer espessura da camada obtém-se um aumento na resposta em estudo de aproximadamente 240%.

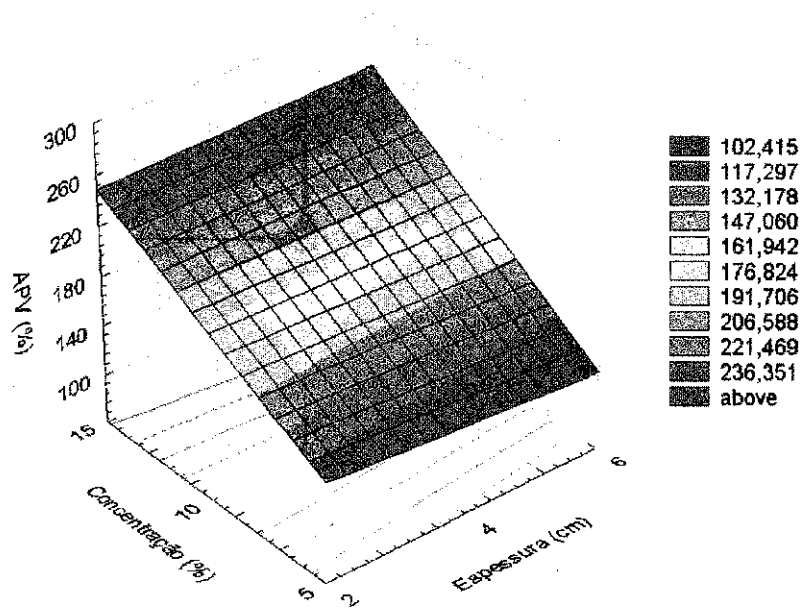


Figura 6.18 Influência da concentração inicial do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre o aumento da percentagem de proteína verdadeira do mandacaru sem espinhos, com a temperatura (T) fixada no ponto central (34 °C).

A Figura 6.19 ilustra a superfície da resposta mostrando as influências dos fatores temperatura e espessura da camada sobre a resposta: aumento da percentagem da proteína verdadeira. Fixando a temperatura acima de 34°C para qualquer espessura da camada, obtém-se um aumento na percentagem de proteína verdadeira acima de 198%.

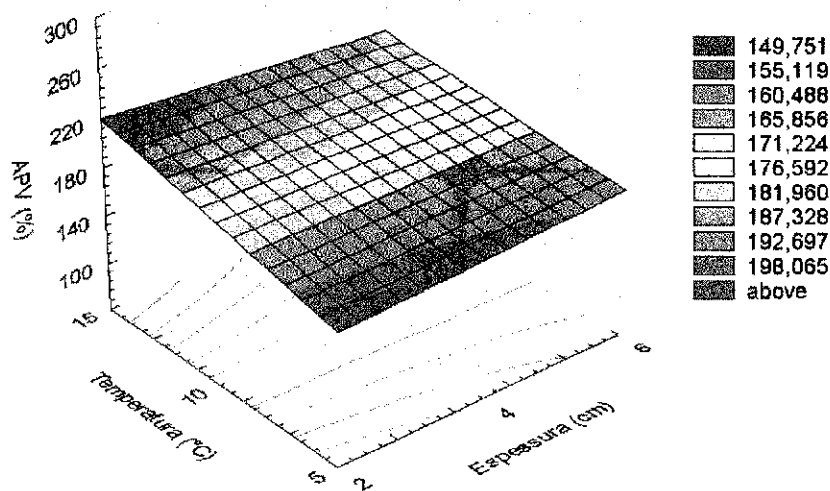


Figura 6.19 Influência da temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o aumento da porcentagem de proteína verdadeira (APV), com concentração inicial do inóculo (C) fixada no ponto central (10%).

Conforme ilustra a Figura 6.20, pode-se observar a otimização do processo de enriquecimento protéico do mandacaru sem espinhos utilizando a levedura sobre a variável resposta aumento da porcentagem da proteína verdadeira (PV). Conseguiu valores de 280%, obtidos quando se opera com concentração inicial do inóculo fixada em nível superior +1, ou seja, 15%, temperatura acima de 34 °C para qualquer espessura da camada.

Estes valores de operação das variáveis da APV apresentam valores similares aos encontrados para porcentagem de PB, APB e PV. Esta superioridade no aumento da porcentagem de proteína verdadeira, adquirida no bioproduto, pode ser explicada pela variação da matéria seca seguida pelo crescimento do microrganismo, durante o processo fermentativo. O aumento da PV pode ser explicado pela transformação de substâncias nitrogenadas em proteínas.

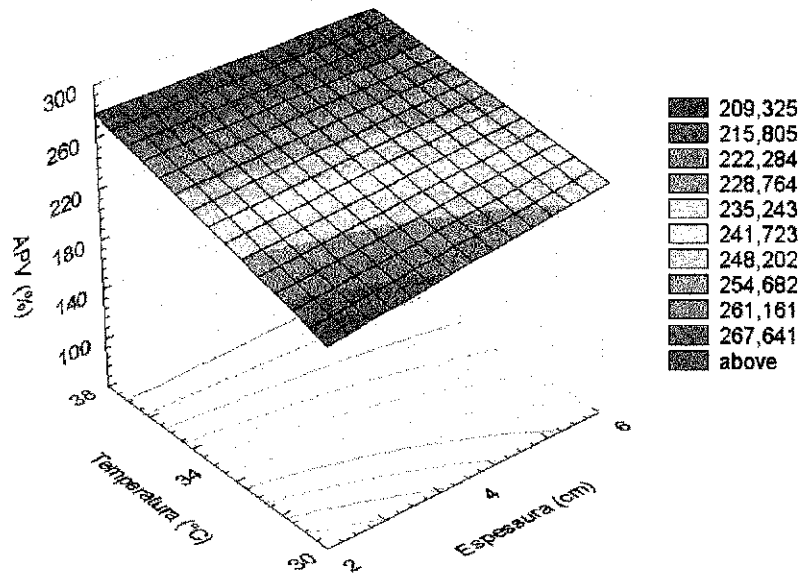


Figura 6.20 Efeitos de temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o aumento da percentagem do teor de proteína verdadeira do mandacaru sem espinhos, fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) no nível +1 (15%).

6.2.2.6 Análise da Superfície de Resposta para a Variável Teor de Fibra em Detergente Ácido (FDA) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura

Na Figura 6.21 observa-se que a superfície de resposta mostra as relações dos fatores (concentração do inóculo e espessura da camada) sobre a resposta: teor de fibra em detergente ácido (FDA). Verifica-se perfil diferente da figura anterior, pois a concentração inicial do inóculo mantida acima de 10%, em qualquer faixa de espessura da camada, obtém-se um aumento na percentagem da fibra em detergente ácido (FDA) em torno de 25,0%.

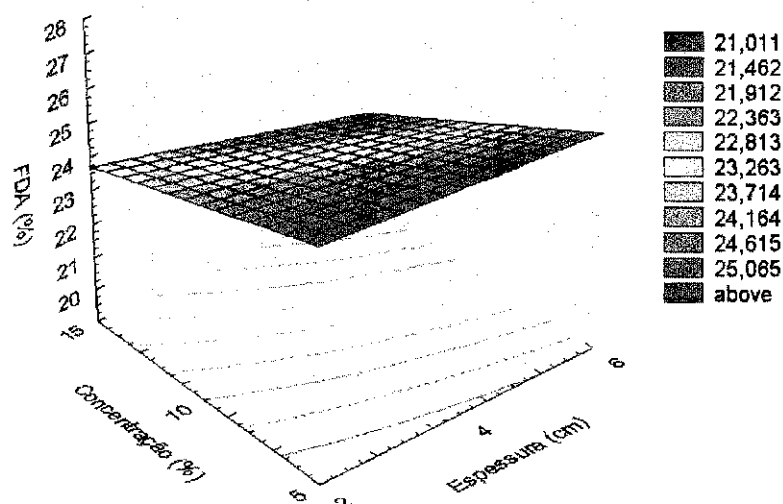


Figura 6.21 Influência da variável concentração do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre a resposta aumento do teor de fibra em detergente ácido (FDA) do mandacaru sem espinhos, com temperatura fixada no ponto central (34°C).

Observa-se que a Figura 6.22 apresenta a superfície de resposta da influência de cada variável independente, concentração do inóculo (C) e da temperatura (T) sobre a resposta aumento do teor de fibra em detergente ácido (FDA). Verifica-se que a concentração inicial do inóculo influencia negativamente a resposta em discussão. Com concentração de inóculo em 5%, utilizando qualquer temperatura, obtém-se como efeito da resposta um aumento do teor de fibra em detergente ácido de aproximadamente 26%.

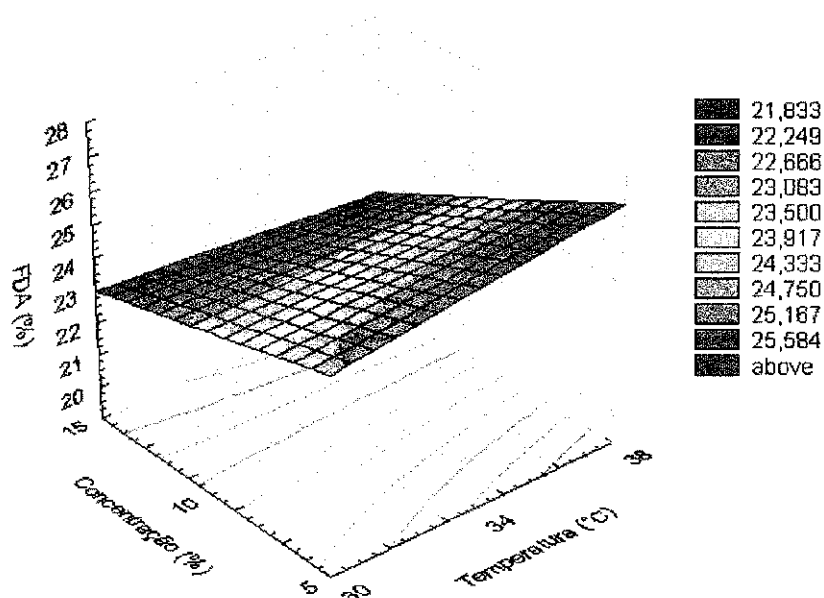


Figura 6.22 Influência da concentração inicial do inóculo (C) temperatura (T) sobre o teor de fibra em detergente ácido (FDA) do mandacaru sem espinhos, fixando-se a espessura da camada (E) no ponto central (4 cm).

Na Figura 6.23 observa-se a superfície de resposta que relaciona os fatores espessura da camada (E) e temperatura (T) em relação á resposta: teor de fibra em detergente ácido (FDA). Verifica-se que a espessura da camada correspondente a 2cm e em qualquer faixa de temperatura, consegue-se um aumento da resposta em estudo em torno de 25%.

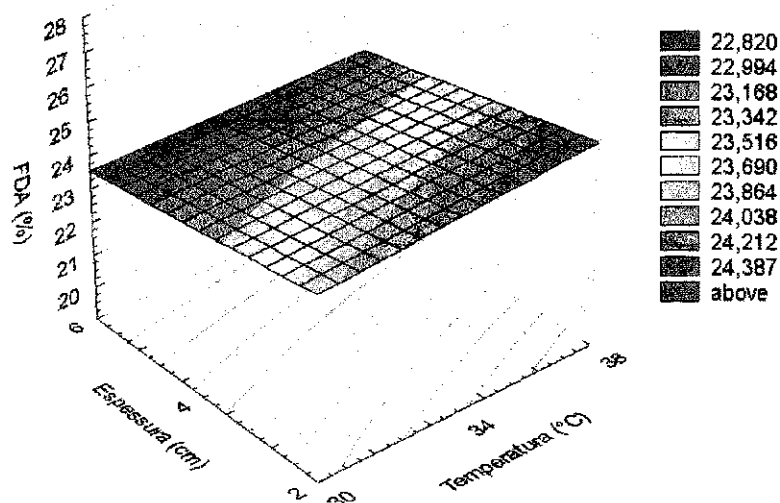


Figura 6.23 Influência da espessura da camada (E) e temperatura (T) sobre o teor de fibra em detergente ácido (FDA) do mandacaru sem espinhos, fixando a concentração inicial do inóculo (C) no ponto central (10%).

A Figura 6.24 ilustra a influência da temperatura e espessura da camada sobre FDA, fixando-se a concentração no nível -1 (5%). Esta superfície facilita a verificação do valor ótimo da resposta. Concluiu-se que o maior valor da percentagem do teor de fibra em detergente ácido (FDA) foi obtido para o mandacaru sem espinhos, após o enriquecimento protéico, de mais de 26% na base da matéria seca, fixando-se a concentração inicial do inóculo em 5%, temperatura acima de 34°C para qualquer faixa de espessura da camada.

Através da otimização do processo de enriquecimento protéico do mandacaru sem espinhos obteve-se teores médios de fibra em detergente ácido (FDA) acima de 26% na base da matéria seca. Este valor está de acordo com as recomendações do NRC (1989) para alimentação de vacas em lactação que é exigido no mínimo de 21% de FDA, com pelo menos 75% de FDN proveniente de volumoso. O mandacaru sem espinhos enriquecido proteicamente apresentou teor de FDA suficiente para a interação entre a fibra e os carboidratos não fibrosos contidos na ração que irá promover fermentação adequada, em função

da efetividade física da fibra e provocar maior mastigação e ruminação, garantindo as condições normais do rúmen, produção e teor de gordura no leite de acordo com SLATER (2000). Os valores de FDA encontrados nas condições deste trabalho superaram o valor de 15,4% encontrado nesta mesma cactácea em estudo na forma "in natura". Observa-se ainda que existe uma correlação negativa entre o teor de FDA e o teor protéico, ou seja, quando ocorre aumento no teor protéico há uma diminuição no teor de FDA. Este fato pode ser atribuído ao consumo dos carboidratos solúveis pelos microrganismos para síntese de proteína, mas não ocorre o consumo de carboidratos fibrosos como celulose, lignina, pois a *Saccharomyces cerevisiae* só metaboliza carboidratos solúveis monossacarídeos.

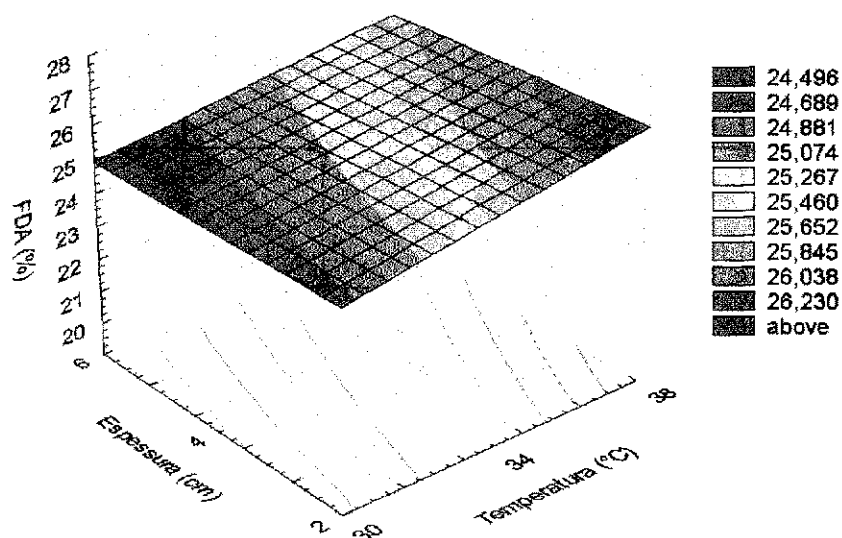


Figura 6.24 Efeitos de temperatura e espessura da camada (E) sobre o teor de fibra em detergente ácido (FDA) do mandacaru sem espinhos, fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) no nível -1 (5%).

6.2.2.7 Análise de Superfície de Resposta para a Variável Percentagem do Teor de Fibra em Detergente Neutro (FDN) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura

A Figura 6.25 ilustra os efeitos das variáveis da concentração inicial do inóculo (C) e temperatura (T) sobre a resposta: fibra em detergente neutro. Verifica-se que a concentração inicial do inóculo apresentou influência negativa, ou seja, quando passa do nível inferior -1 para o nível superior +1 ocorre um decréscimo no teor de FDN. Quando fixa a concentração inicial do inóculo em 5%, em uma faixa qualquer de temperatura, obtém-se percentagem do teor de FDN acima de 51%.

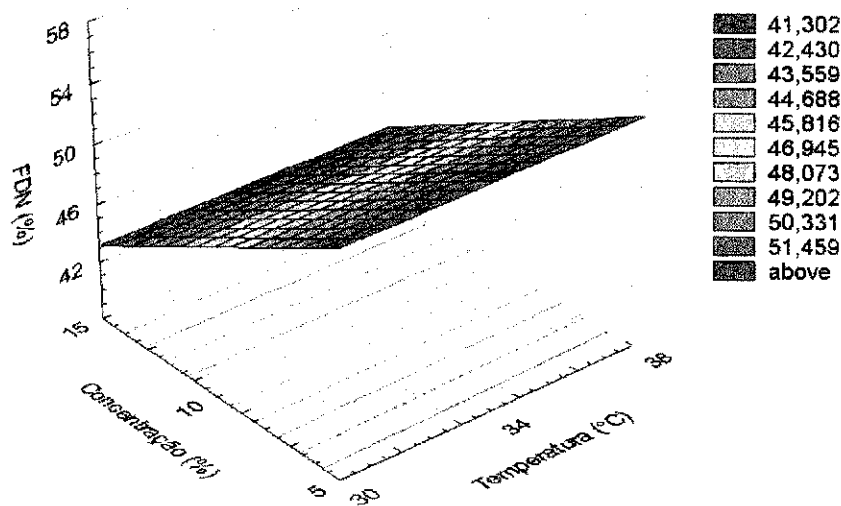


Figura 6.25 Influência da concentração do inóculo (C) e temperatura (T) sobre o teor de fibra em detergente neutro (FDN) do mandacaru sem espinhos, fixando-se a espessura da camada (E) no ponto central (4 cm).

A Figura 6.26 apresenta a superfície de resposta da influência da variável independente, temperatura (T) assim como também a influência da variável espessura da camada (E) sobre a resposta: fibra em detergente neutro (FDN). Operando-se na temperatura acima de 34°C e espessura acima de 4 cm, obtém-

se FDN acima de 47%. Estas áreas antagônicas são devidas as interações não lineares tais como: T x E, C x T x E.

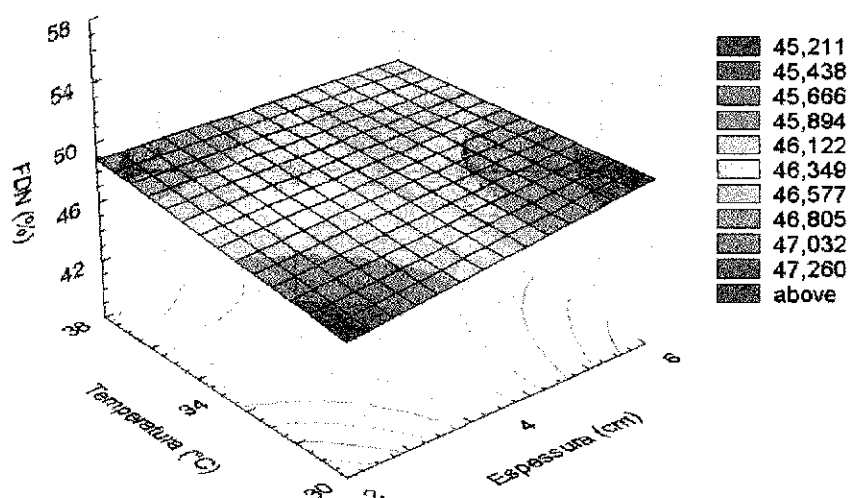


Figura 6.26 Influência de temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o teor de fibra em detergente neutro (FDN) do mandacaru sem espinhos, fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) em 10%.

Analisando a Figura 6.27 observa-se que as influências da espessura da camada (E) e temperatura (T) sobre a resposta: fibra detergente neutra (FDN). Fixando a concentração no nível inferior -1 (5%). Verifica-se que a concentração inicial do inóculo (C) teve influência negativa sobre a resposta em estudo. Fixando-se a concentração inicial do inóculo em 5%, em uma faixa de temperatura qualquer, e espessura acima de 4cm, obtém-se percentagem do teor de FDN acima de 54%.

Após o enriquecimento protéico o mandacaru sem espinhos apresentou valores de FDN acima de 54%. Estes valores estão de acordo com FIGUEIREDO (1996), que afirma que os alimentos com percentuais de FDN acima de 35% garantem teor normal de gordura do leite.

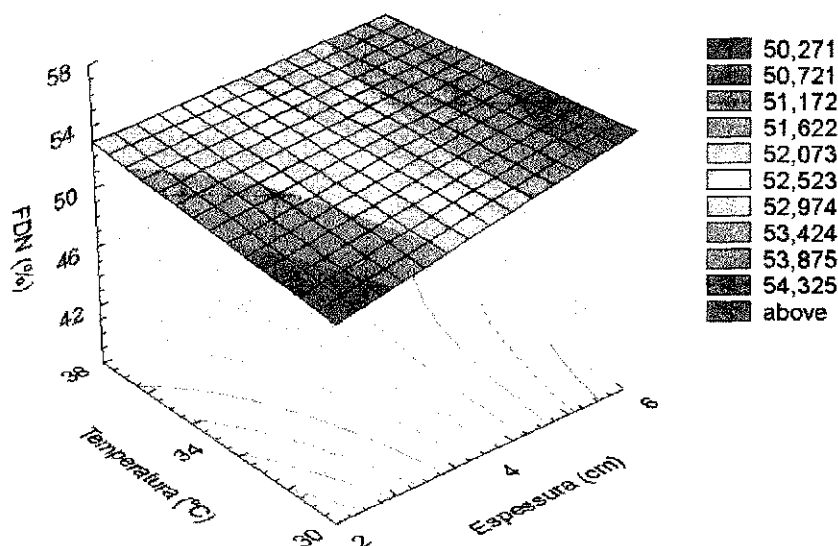


Figura 6.27 Influência de temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o teor de fibra em detergente neutro do mandacaru sem espinhos, fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) –1 (5%).

Analisando a Figura 6.28 que apresenta os efeitos de concentração (C) e espessura (E) sobre FDN, observam-se as influências das variáveis independentes espessura da camada (E) e temperatura (T) sobre a resposta: fibra em detergente neutro (FDN). Verifica-se que a concentração inicial do inóculo (C) teve influência negativa sobre a resposta em estudo. Fixando-se a concentração inicial do inóculo acima de 5%, em uma faixa de espessura qualquer, obtém-se um teor de FDN acima de 53%.

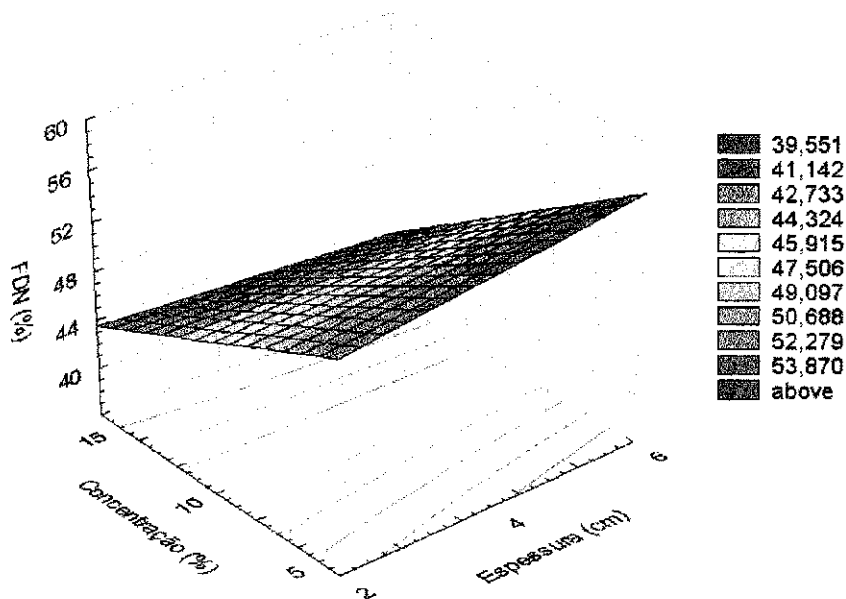


Figura 6.28 Influência da concentração do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre o teor de fibra em detergente neutro (FDN) do mandacaru sem espinhos, fixando-se a temperatura em 34°C.

6.2.2.8 Análise de Superfície de Resposta para a Variável Percentagem do Teor de Hemicelulose (HC) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura

A Figura 6.29 representa a superfície de resposta das influências das variáveis independentes da concentração inicial do inóculo (C) e temperatura (T) sobre a percentagem do teor de hemicelulose. A temperatura não influencia sobre a percentagem do teor de hemicelulose. Fixando a concentração inicial do inóculo abaixo de 10%, independentemente da faixa de temperatura estudada, obtém-se percentagem de hemicelulose de aproximadamente 27%.

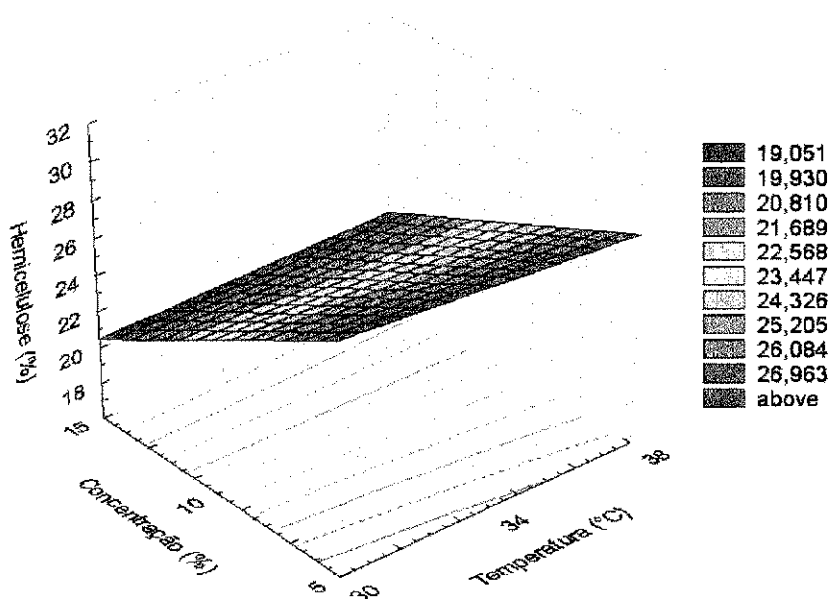


Figura 6.29 Influência da concentração do inóculo (C) e temperatura (T) sobre o teor de hemicelulose do mandacaru sem espinhos, com a espessura da camada (E) fixada no ponto central (4 cm).

Na Figura 6.30 observam-se os efeitos das variáveis de entrada concentração inicial do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre a resposta: teor de hemicelulose. Fixando a concentração inicial do inóculo em aproximadamente 5% (nível-1), em qualquer espessura da camada, obtém-se teor de hemicelulose de 28%.

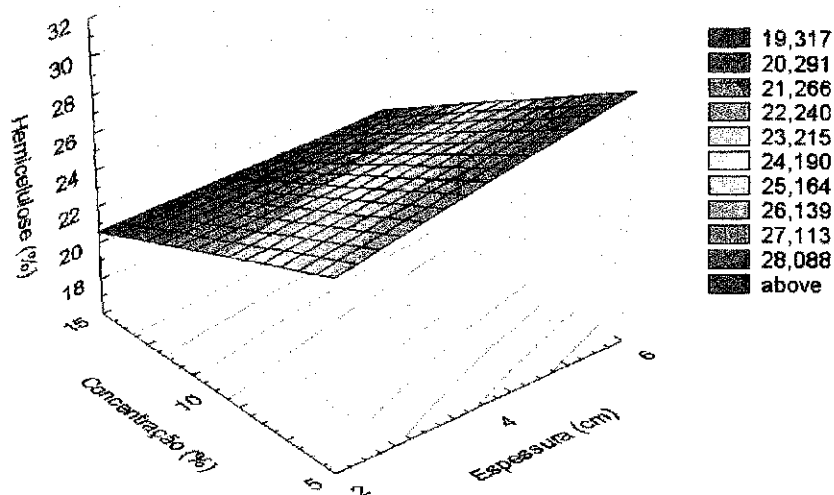


Figura 6.30 Influência da concentração do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre o teor de hemicelulose do mandacaru sem espinhos, com a temperatura fixada no ponto central (34°C).

Na Figura 6.31 observam-se os efeitos das variáveis de entrada temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre a resposta em estudo. Quando fixa a espessura da camada acima de 4 cm e temperatura abaixo de 34 °C, obtém-se percentagem de hemicelulose em acima de 24,0%.

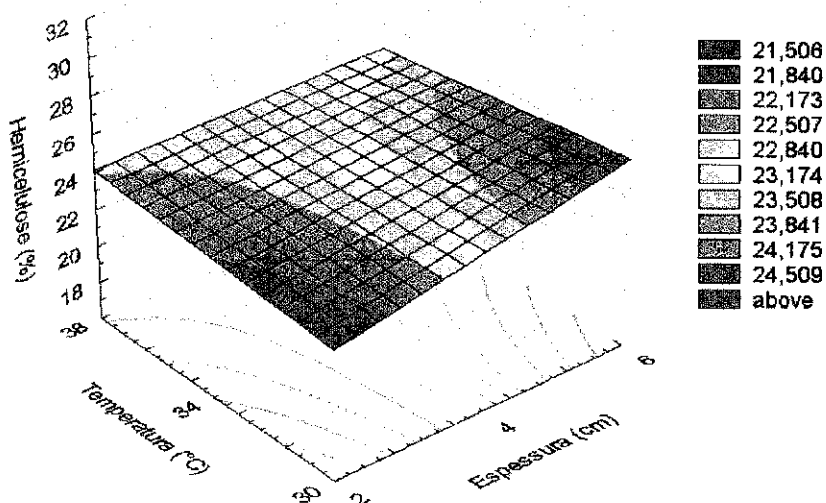


Figura 6.31 Influência da espessura da camada (E) e temperatura (T) sobre o teor de hemicelulose do mandacaru sem espinhos, com a concentração inicial do inóculo (C) fixando ponto central (10%)

Analisando a Figura 6.32, observa-se que o maior valor da percentagem do teor de hemicelulose obtido no mandacaru sem espinhos enriquecido proteicamente foi de aproximadamente 30%, quando se opera com concentração do inóculo em torno de 5% (nível -1), temperatura abaixo de 34 °C e a espessura da camada acima de 4 cm.

Conclui-se que nas três superfícies de resposta das variáveis de entrada obtiveram comportamentos idênticos aos observados nas respostas fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN). Pode-se verificar que da diferença da média de FDN e FDA, obtém-se a média de hemicelulose (Tabela 6.2).

Conforme a otimização do processo o teor de hemicelulose do mandacaru sem espinhos enriquecido com levedura, apresentou um perfil idêntico aos teores de FDA e FDN. Este fato pode ser justificado devido a hemicelulose ser um carboidrato não metabolizado pela *Saccharomyces cerevisiae*.

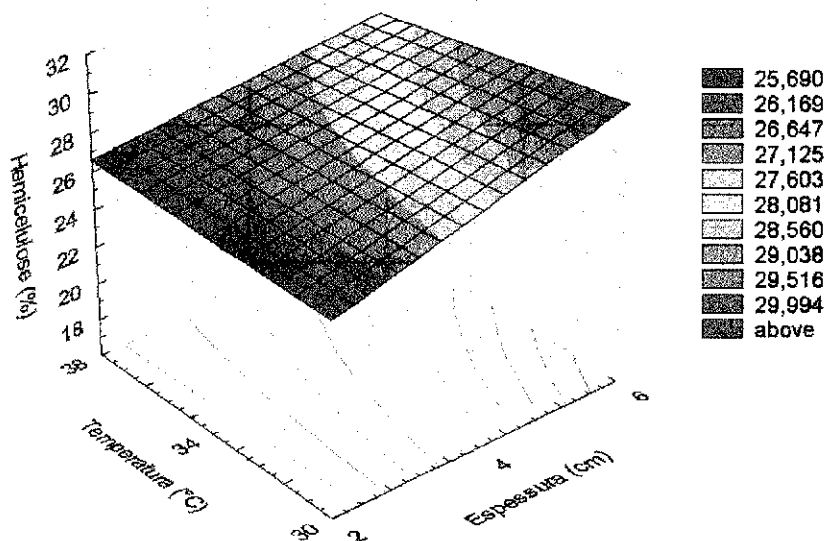


Figura 6.32 Efeitos da espessura da camada (E) e temperatura (T) sobre o teor de hemicelulose do mandacaru sem espinhos, fixando-se a concentração no nível -1 (5%).

6.2.2.9 Análise de Superfície de Resposta para a Variável Percentagem de Matéria Orgânica (MO) do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura

Conforme ilustra a Figura 6.33 observa-se que a concentração inicial do inóculo (C) influencia negativamente sobre a variável resposta percentagem do teor de matéria orgânica (MO), sendo a variável que mais tem efeito sobre a resposta. Fixando a concentração inicial do inóculo abaixo de 10% e qualquer faixa de temperatura, obtém-se teor de matéria orgânica acima de 88%.

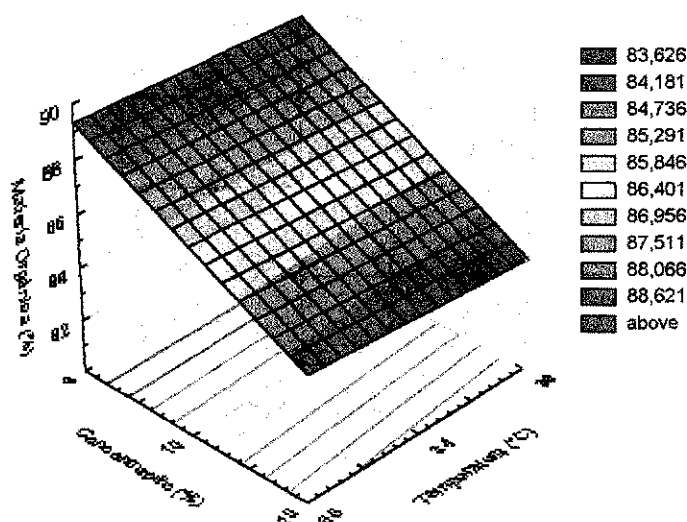


Figura 6.33 Influência da concentração do inóculo (C) e temperatura (T) sobre o teor da matéria orgânica (MO) do mandacaru sem espinhos, fixando-se a espessura da camada no ponto central (4cm).

A Figura 6.34 apresenta as influências das variáveis independentes concentração inicial do inóculo (C) e espessura da camada (E), sobre a variável resposta teor de matéria orgânica (MO). Verifica-se que a influência da variável concentração inicial do inóculo abaixo de 10% em uma faixa de espessura da camada qualquer, obtém-se teores de matéria orgânica acima de 88%.

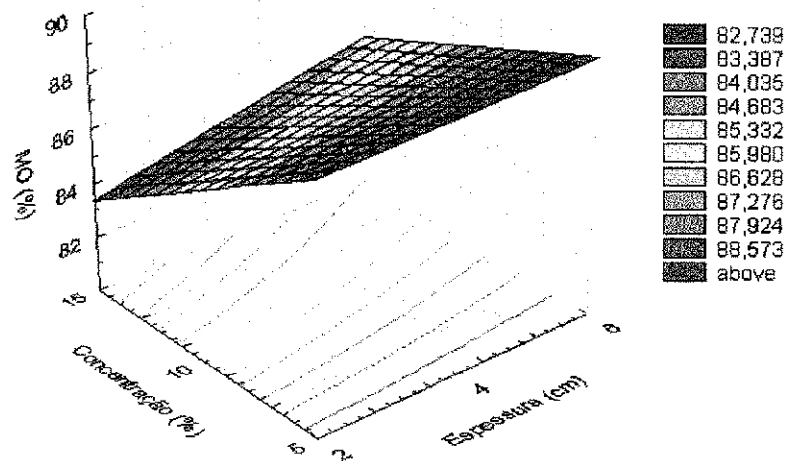


Figura 6.34 Influência da concentração do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre o teor de matéria orgânica (MO) do mandacaru sem espinhos, com temperatura fixada no ponto central (34°C).

A Figura 6.35 apresenta os efeitos de temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre a resposta matéria orgânica (MO), fixando-se a concentração inicial do inóculo no ponto central (10%). Verifica-se que quando fixa a espessura da camada acima de 4 cm, para temperatura abaixo de 34 °C, obtém-se o teor de matéria orgânica acima de 87%.

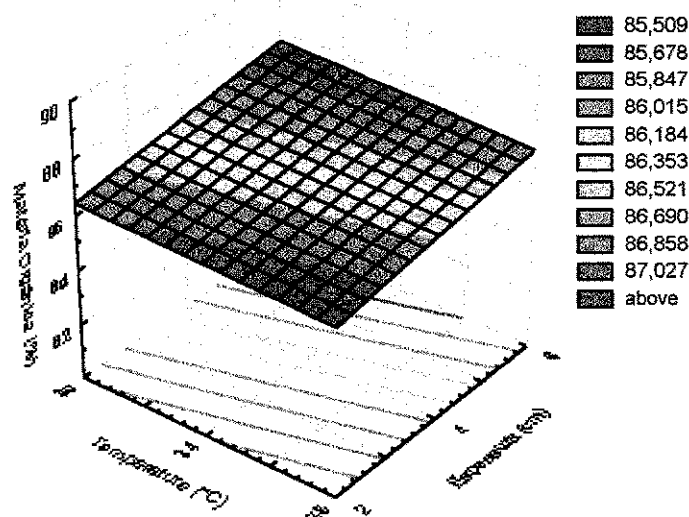


Figura 6.35 Influência da temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o teor de matéria orgânica (MO) do mandacaru sem espinhos, fixando-se no ponto central (10%).

A Figura 6.36 ilustra a superfície da resposta que facilita a visualização dos valores ótimos das variáveis de entrada que maximizam o teor de percentagem da matéria orgânica (MO). Operando na concentração inicial de inóculo em 5% (nível -1), temperatura abaixo de 34°C e espessura da camada acima de 4 cm, obtém-se o teor de percentagem de matéria orgânica (MO) em torno de 90%.

Após o processo de enriquecimento protéico do mandacaru sem espinhos, pode-se observar que houve oscilação nos teores de matéria orgânica, apresentando comportamento idêntico aos teores de FDN, FDA e hemicelulose, ou seja, quando opera-se com a concentração inicial do inóculo no nível -1 (5%), o teor de matéria orgânica aumenta, quando a operação é feita com a concentração inicial do inóculo no nível mais +1 (15%), o teor de matéria orgânica diminui. Este fato deve-se ao consumo de carboidratos solúveis pelos microrganismos para síntese protéica.

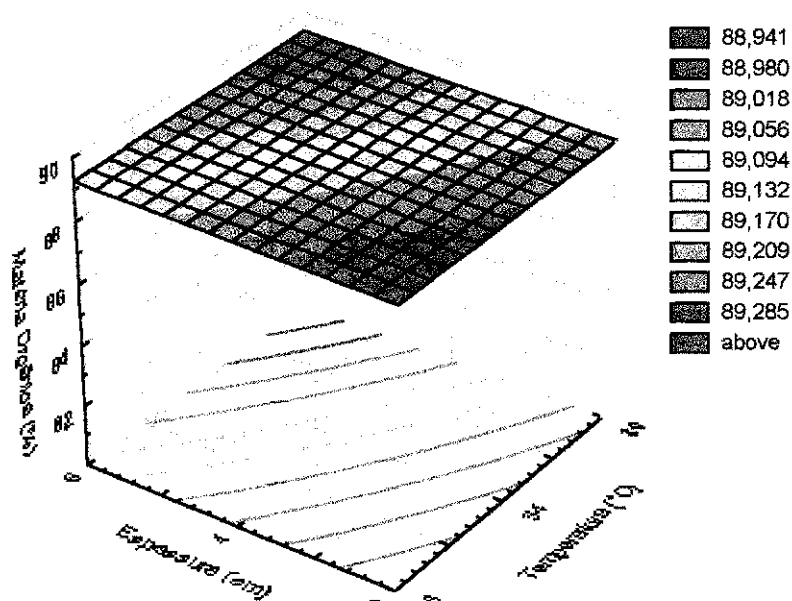


Figura 6.36 Influência da temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o teor de matéria orgânica (MO) do mandacaru sem espinhos, fixando-se a concentração inicial no nível de -1 (5%).

6.2.2.10 Análise de Superfície de Resposta para Variável Energia Bruta do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura

A Figura 6.37 apresenta a superfície de resposta da influência das variáveis independentes temperatura (T) e concentração inicial do inóculo (C) sobre a resposta energia bruta, fixando-se a espessura da camada no ponto central (0). Operando com a temperatura abaixo de 34°C, obtém-se energia bruta em torno de 4.107cal/g, para concentração fixada acima de 10%.

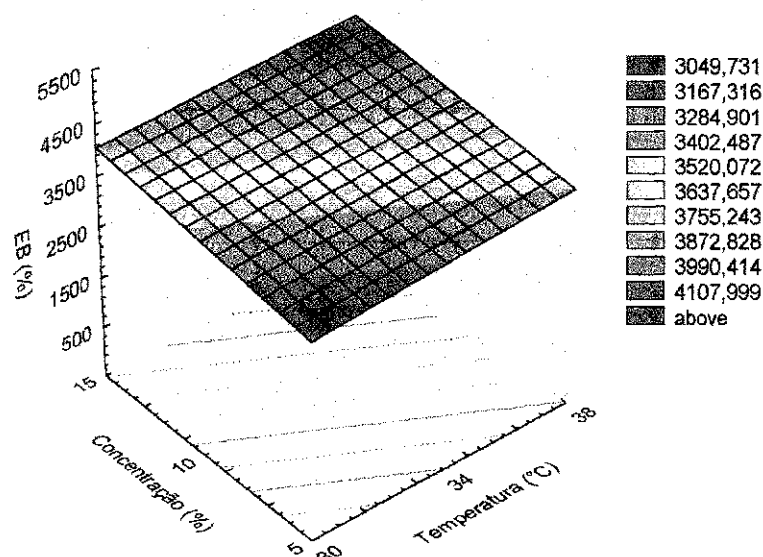


Figura 6.37- Influência de temperatura (T) e concentração inicial (C) sobre a energia bruta do mandacaru sem espinhos, com a espessura da camada (E) fixada no ponto central (4cm).

A Figura 6.38 apresenta a influência das variáveis concentração inicial do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre a resposta energia bruta (EB), fixando-se a temperatura no ponto central (34°C). Pode-se verificar que operando na concentração máxima do inóculo (15%) e espessura da camada abaixo de 4 cm, consegue-se energia bruta (EB) acima de 4.370 cal/g.

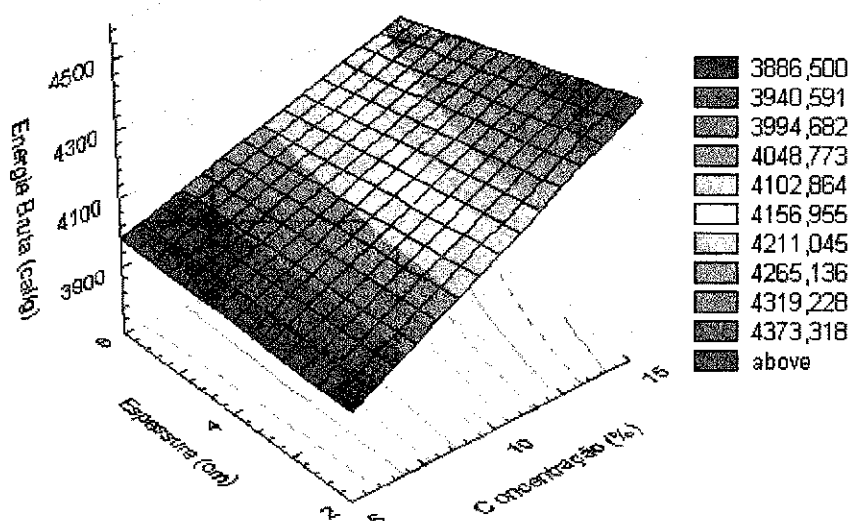


Figura 6.38 Influência da espessura da camada (E) e concentração inicial do inóculo (C) sobre a energia bruta do mandacaru sem espinhos, fixando-se a temperatura no ponto central (34°C).

Conforme a Figura 6.39 observa-se o efeito das variáveis de entrada espessura da camada (E) e a temperatura (T) sobre a EB, fixando agora a concentração no ponto central (10%). Pode-se verificar que em valores baixos (nível -1) de temperatura abaixo de 34°C e espessura da camada em torno de 4cm, obtém-se os maiores valores de energia bruta (EB), em torno de 4.300 cal/g.

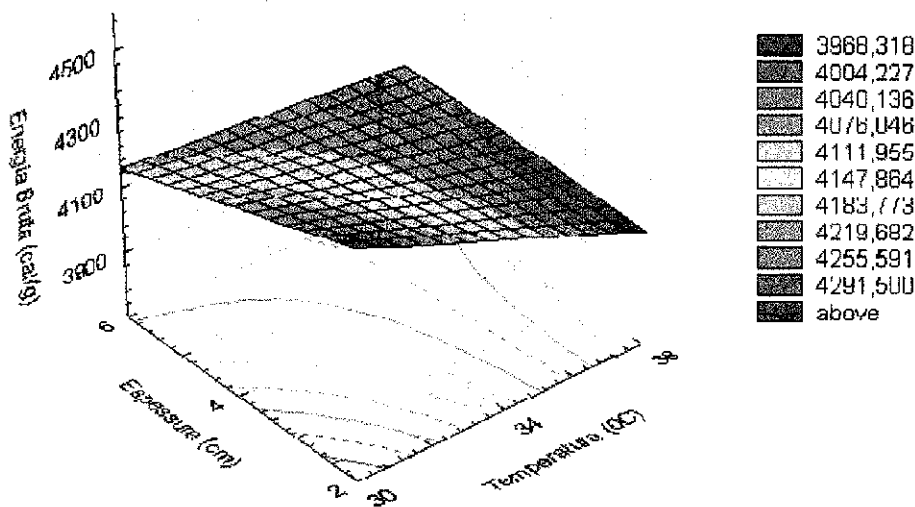


Figura 6.39 Influência da espessura da camada (E) e temperatura (T) sobre a energia bruta do mandacaru sem espinhos, fixando a concentração inicial do inóculo no ponto central (10%).

Avaliando a Figura 6.40 que apresenta os efeitos de temperatura (T) e espessura da camada (E), com a concentração inicial do inóculo (C) fixada no nível +1 (15%), facilitando a observação dos melhores valores de operação das variáveis de entrada que maximiza a resposta em estudo. Conclui-se que o maior teor de energia bruta obtida para mandacaru sem espinhos, após o enriquecimento protéico, foi de aproximadamente 4.700 cal/g, quando se opera com espessura de 4cm, e temperatura acima de 30 °C e concentração inicial do inóculo fixada no nível superior +1 (15%).

O mandacaru sem espinhos na forma "in natura" utilizada neste trabalho, apresentou teor médio de energia bruta de 3.720 cal/g, valor menor foi encontrado por ARAÚJO (2001) com 3.178 cal/g.

Os teores de energia bruta do mandacaru sem espinhos obtidos após o enriquecimento protéico desta cactácea, atingiram valor de 4.700 cal/g. Este valor está de acordo com ADISA e FAJOLA (1982) e BERTAGNOLLI et al. (1988), pois as fontes de carbono utilizadas por microrganismos são variáveis e dependentes da capacidade destes em decompor os compostos orgânicos e em sintetizar

substâncias complexas a partir de unidades mais simples. Afirmaram ainda que existem diferenças de aptidão entre microrganismos quanto à obtenção de energia a partir de diferentes fontes de carbono.

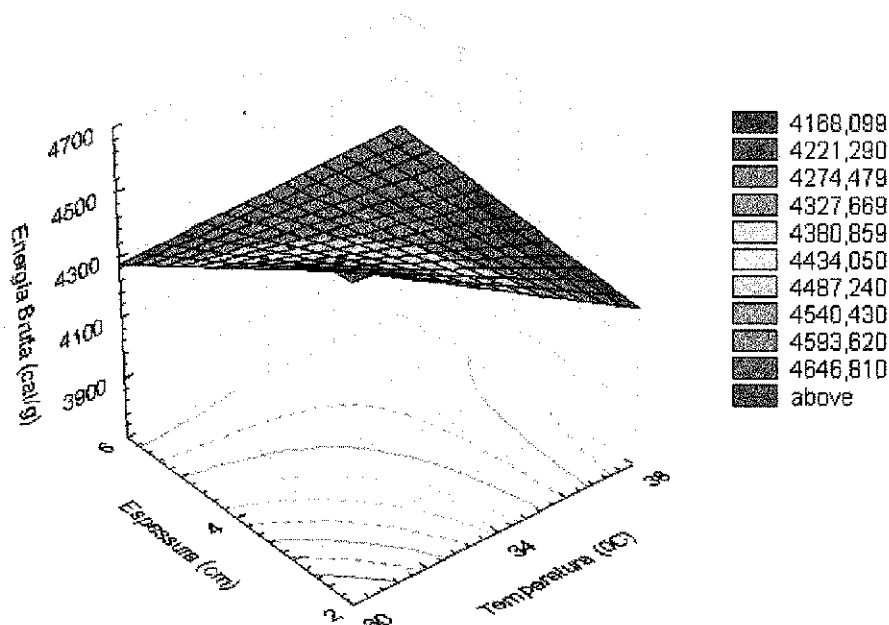


Figura 6.40 Influência das variáveis de entrada espessura da camada (E) e temperatura (T) sobre a resposta energia bruta do mandacaru sem espinhos, fixando a concentração inicial do inóculo (C) no nível +1 (15%).

6.2.2.11 Análise de Superfície de Resposta para Variável Coeficiente de Digestibilidade “in vitro” da Matéria Seca do Mandacaru sem Espinhos Enriquecido com Levedura

Na Figura 6.41 verifica-se a superfície de resposta que relaciona as variáveis independentes concentração inicial do inóculo e temperatura sobre a resposta: digestibilidade “in vitro” da matéria seca. Observa-se que com a concentração do inóculo acima de 10% para qualquer temperatura, tem-se um coeficiente de digestibilidade “in vitro” da matéria seca acima de 98%.

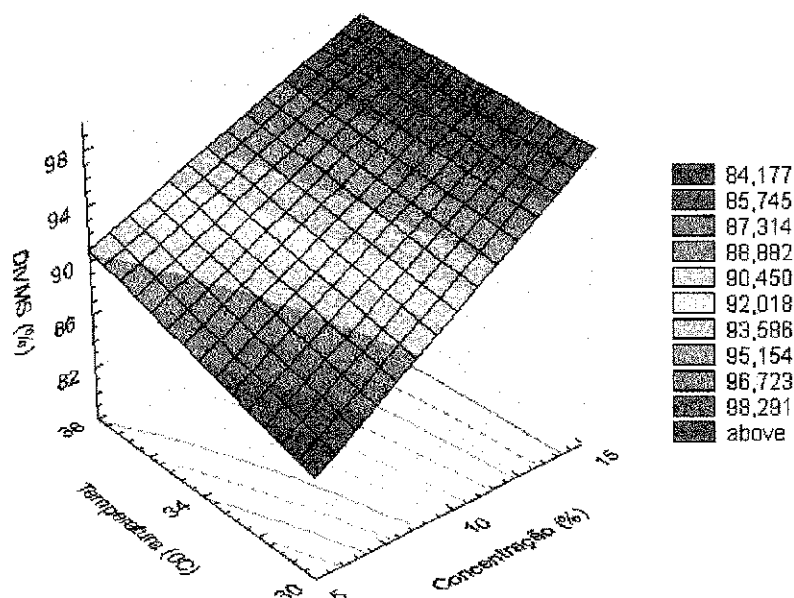


Figura 6.41 Influência da concentração do inóculo (C) e temperatura (T) sobre o coeficiente de digestibilidade “in vitro” da matéria seca do mandacaru sem espinhos, fixando-se a espessura da camada no ponto central (4cm).

Analisando a Figura 6.42 observa-se que na superfície de resposta os efeitos de concentração inicial do inóculo teve influência positiva e superior que a variável espessura da camada (E), sobre a resposta: digestibilidade “in vitro” da matéria seca. Percebe-se que o mesmo perfil observado na análise da figura anterior é verificado nesta figura, ou seja, a concentração do inóculo inicial (C) fixado acima de 10% e para qualquer valor de espessura da camada tem-se DIVMS de aproximadamente 99%.

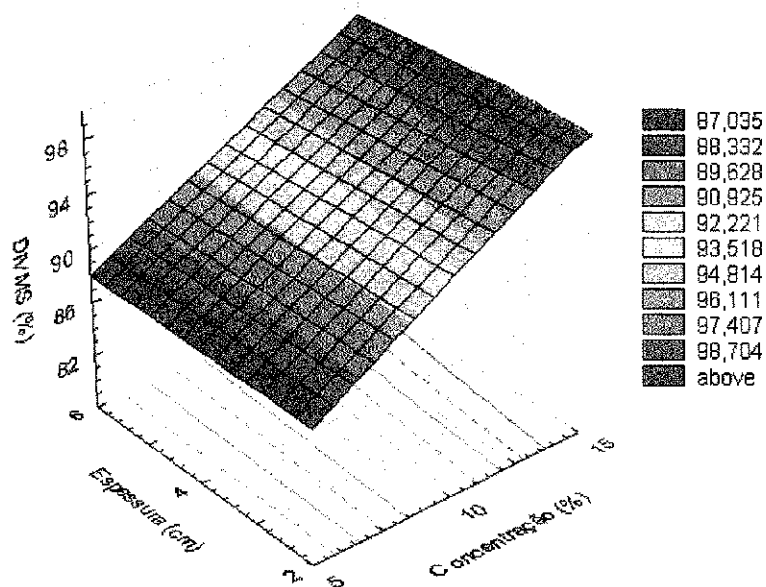


Figura 6.42 Influência da concentração do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre o coeficiente de digestibilidade "in vitro" da matéria seca do mandacaru sem espinhos, fixando-se a temperatura (T) igual a 34°C.

Observando-se a Figura 6.43 verifica-se a superfície de resposta da influência das variáveis independentes temperatura e espessura da camada sobre a resposta: digestibilidade "in vitro" da matéria seca. Fixando a temperatura acima de 34°C e espessura da camada abaixo de 4cm, obtém-se um coeficiente de digestibilidade "in vitro" da matéria seca acima de 94%.

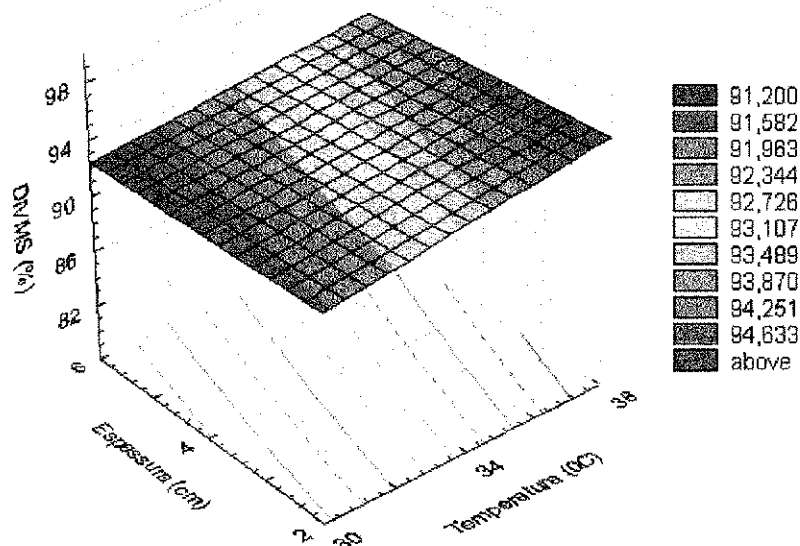


Figura 6.43 Influência da temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o coeficiente de digestibilidade "in vitro" da matéria seca do mandacaru sem espinhos, com concentração inicial do inóculo fixado no ponto central (10%).

A Figura 6.44 ilustra a influência da espessura da camada (E) e temperatura (T) sobre a digestibilidade "in vitro" da matéria seca (DIVMS), fixando-se a concentração no nível superior +1 (15%). Operando-se com concentração de 15%, espessura da camada abaixo de 4 cm para qualquer temperatura, obtém-se o DIVMS em torno de 98%. Claro que valores acima de 100% não existem. Isto é devido ao erro residual introduzido pelo modelo ajustado através da regressão.

A análise do coeficiente de digestibilidade "in vitro" da matéria seca do mandacaru sem espinhos enriquecido com levedura, apresentou aumento em relação a cactácea em estudo na forma "in natura" nas condições deste trabalho que foi de 69,99%, após o processo fermentativo. O coeficiente de DIVMS variou de 81,17% a 99,45%. Valores inferiores foram encontrados por NASCIMENTO (1998), quando hidrolisou com uréia as matérias-primas casca de arroz, bagaço de cana-de-açúcar, obtendo coeficiente de DIVMS em média de 48,12 e 51,23 respectivamente. ARAÚJO (2001), encontrou valor médio para o coeficiente de DIVMS para o mandacaru sem espinhos "in natura", correspondente a 77,99%.

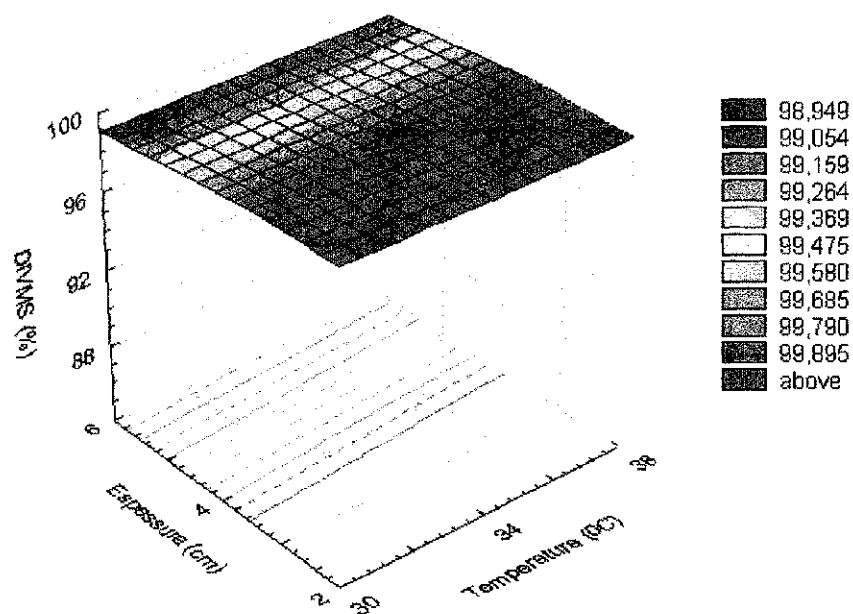


Figura 6.44 Influência da temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o coeficiente de digestibilidade “in vitro” da matéria seca do mandacaru sem espinhos; fixando-se a concentração inicial no nível +1 (15%).

6.3 Estudo da Composição Química e Digestibilidade “in vitro” da Matéria Seca da Palma Forrageira na Forma “in natura” e após Enriquecimento Protéico

A Tabela 6.3 apresenta os valores da composição química e digestibilidade “in vitro” da matéria seca da palma forrageira na forma “in natura” e após enriquecimento protéico utilizando a levedura da espécie *Saccharomyces cerevisiae* em fermentação semi-sólida.

6.3.1 Análise da Regressão dos Modelos Codificados

Como foi feito anteriormente para o estudo da cactácea, mandacaru sem espinhos, também foi realizada para a cactácea palma forrageira a regressão dos dados experimentais. Inicialmente foi feita uma regressão linear dos dados experimentais para cada resposta, utilizando-se também o programa computacional STATISTICA versão 5.0. Dessa maneira encontraram-se os coeficientes dos modelos, apresentados na Tabela 6.4.

Observando-se a Tabela 6.4, verifica-se que todos os 11 modelos lineares codificados das respostas estudadas são estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança. As equações das respostas: matéria seca (MS), proteína bruta (PB), aumento da percentagem de proteína bruta (APB), aumento da percentagem de proteína verdadeira (APV), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), percentagem de hemicelulose (HC), energia bruta (EB), matéria orgânica (MO), além de apresentarem ótimos valores de variação explicável (R^2), apresentam valores elevados da razão $F_{\text{calculado}}/F_{\text{tabelado}}$, demonstrando que estes modelos são altamente preditivos.

Tabela 6.3 Valores da composição química e digestibilidade “in vitro” da palma forrageira na forma “in natura” e enriquecida com levedura, com base no teor de matéria seca

ENSAIOS	MS (%)	PB (%)	APB (%)	PV (%)	APV (%)	FDA (%)	FDN (%)	HC (%)	EB (cal/g)	MO (%)	DIVMS (%)
“in Natura”	9,3	7,93	–	4,49	–	13,60	20,85	7,25	3,720	85,48	78,09
1	10,74	14,88	116,8	8,4	115,8	20,85	46,65	25,0	3,847	87,76	90,99
2	14,49	25,48	401,0	9,75	238,0	16,43	23,08	6,65	4,009	84,81	98,42
3	10,96	15,25	126,4	7,98	109,2	24,00	44,43	20,43	3,789	87,65	92,35
4	14,34	24,33	373,4	11,25	285,9	17,45	27,16	9,71	4,322	83,51	98,32
5	10,62	14,94	115,3	9,00	128,7	20,21	44,43	24,22	3,801	87,57	93,54
6	14,42	25,01	389,3	11,55	298,4	16,91	24,22	7,31	4,067	83,30	98,01
7	10,63	14,93	115,3	8,24	109,5	24,06	42,60	18,54	3,843	87,42	93,66
8	14,33	24,75	381,2	10,95	275,7	19,92	25,32	5,4	4,152	83,87	97,63
9	12,31	22,51	276,0	8,82	159,7	19,33	36,11	16,78	3,964	86,45	96,87
10	12,25	21,26	253,4	8,56	150,9	18,83	38,08	19,25	3,908	86,72	96,71
11	12,43	23,75	300,6	8,64	156,9	18,86	34,76	15,9	3,906	86,52	96,81

Valores em negrito: Expressos na matéria “in natura”

Valores em escrita clara: expressos na matéria processada

Tabela 6.4 Análise da regressão dos modelos estatísticos codificados para as variáveis respostas matéria seca (MS), proteína bruta (PB), aumento da percentagem da proteína bruta (APB), proteína verdadeira (PV), aumento da percentagem da proteína verdadeira (APV), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose (HC), energia bruta (EB), matéria orgânica (MO) e digestibilidade “in vitro” da matéria seca (DIVMS) estatisticamente significativas da palma forrageira

Variável	Modelos empíricos codificados	R ²	F _{cal} /F _{tab}
MS (%)	12,5 + 1,8C	0,995	204,2
PB (%)	20,4 + 5,3C	0,920	19,89
APB (%)	259,01 + 133,84C	0,980	86,39
PV (%)	9,38 + 1,24C + 0,3E + 0,26CT – 0,31TE – 0,22TCE	0,880	3,45
APV (%)	184,4 + 79,3C + 7,9E – 10,4TE – 7,9TCE	0,940	2,69
FDN (%)	35,67 – 9,8C	0,990	27,86
FDA (%)	9,65 – 2,3C + 1,4T + 0,44CE	0,965	10,26
HC (%)	15,52 – 7,5C	0,960	18,57
EB cal/g	3.964 + 158,75C + 51,75CT	0,830	6,36
MO (%)	85,96 – 1,86C + 0,23TE + 0,24CTE	0,930	14,01
DIVMS (%)	95,76 + 2,73C + 0,13T + 0,35E – 0,25C + 0,62CE – 0,19CTE	0,935	2,33

6.3.2 Otimização das Variáveis de Entrada do Processo de Enriquecimento Protéico da Palma Forrageira

6.3.2.1 Análise da Superfície de Resposta para a Variável Matéria Seca (MS) da Palma Forrageira Enriquecida com Levedura

Através da Figura 6.45 verifica-se que a concentração inicial do inóculo (C) apresentou influência positiva bem maior do que a influência da variável de entrada temperatura (T) sobre a resposta matéria seca (MS). Verifica-se que a concentração inicial do inóculo apresenta influência positiva, ou seja, quando passa do nível inferior (-1) para o nível superior (+1), ocorre uma maior concentração da matéria seca (MS). Fixando a concentração inicial do inóculo acima de 10%, independente da temperatura estudada, obtém-se percentagem de matéria seca em torno de 14%. Em relação à temperatura pode-se afirmar que quanto mais baixa for maior será a economia de energia para realização do processo.

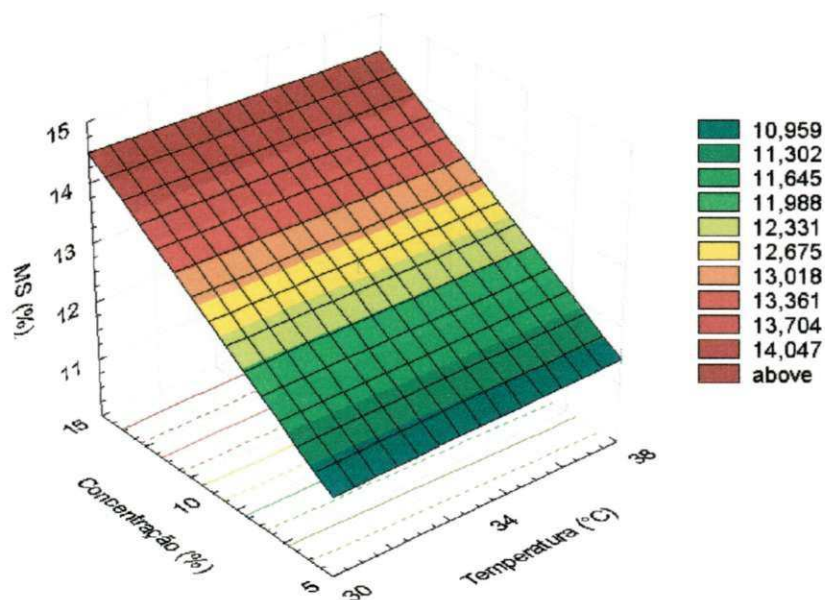


Figura 6.45 Influência das variáveis de entrada concentração inicial do inóculo (C) e temperatura (T) sobre o teor de matéria seca da palma forrageira, fixando-se a espessura da camada (E) igual a 4 cm (ponto central).

Na Figura 6.46 verifica-se praticamente o mesmo comportamento da figura anterior, que a concentração do inóculo (C) apresentou um efeito positivo na resposta em estudo. O efeito da variável espessura da camada (E) apresenta pouca influência no teor de matéria seca (MS). Observa-se que quando fixa a concentração inicial do inóculo acima de 10% em qualquer espessura da camada, obtém-se aumento na percentagem do teor de matéria seca em torno de 14%.

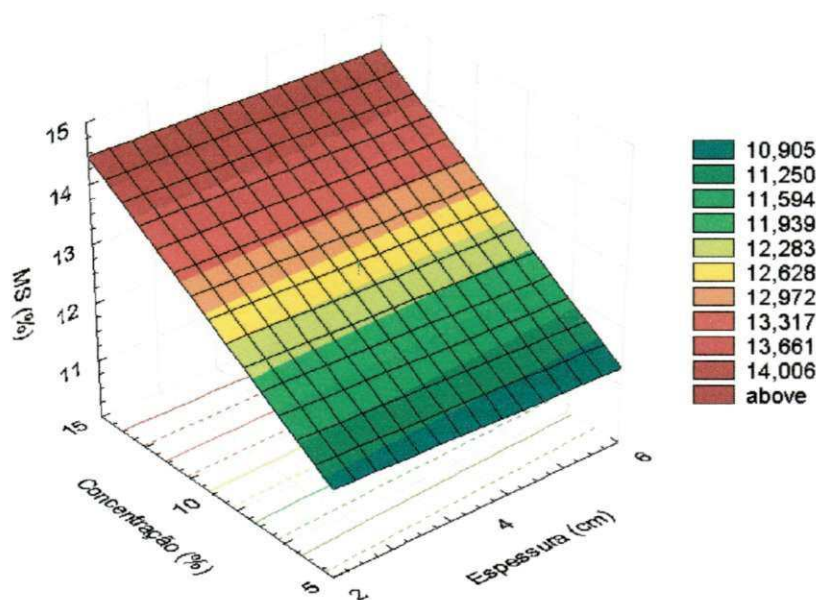


Figura 6.46 Influência das variáveis de entrada concentração do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre o teor de matéria seca da palma forrageira, fixando-se temperatura (T) no ponto central (34° C).

Na Figura 6.47 observa-se a superfície de resposta que mostra a influência das variáveis dos fatores espessura da camada (E) e a temperatura (T) em relação a resposta: teor de matéria seca (MS). Como as duas variáveis temperatura (T) e espessura da camada (E) não apresentam influências significativas sobre a resposta em estudo, o gráfico não apresenta inclinação. Verifica-se que a espessura da camada fixada abaixo de 4cm para qualquer faixa de temperatura, obtém-se um aumento da resposta em estudo acima de 12%.

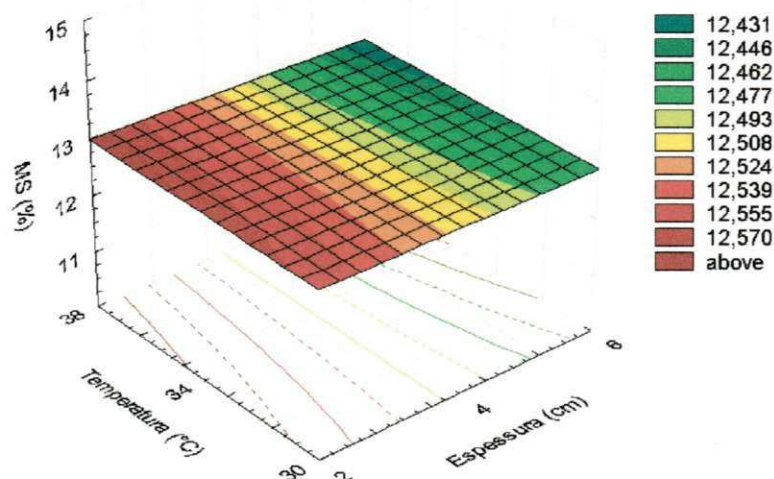


Figura 6.47 Influência das variáveis de entrada espessura da camada (E) e temperatura (T) sobre o teor de matéria seca da palma forrageira, fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) no ponto central (10%).

A Figura 6.48 ilustra as influências das variáveis independentes temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre a resposta matéria seca (MS), fixando-se a concentração inicial do inóculo no nível superior (15%). Operando-se com concentração do inóculo em 15% e temperatura abaixo de 34°C para qualquer espessura da camada obtém-se percentagem de matéria seca em torno de 14,5%.

Observa-se através da Tabela 6.3, que a percentagem da matéria seca (MS) da palma forrageira na forma "in natura" é de 9,3%. Valores menores foram encontrados por FARIAS (1998) com 8,6%; BARBOSA (1998) igual a 6,7% e SEBRAE (2001) com 6,8%. Porém foi menor que os valores verificados por ARAÚJO (1994) que encontra valor igual a 14,02%, MATTOS (2000), com 16,3%, ARAÚJO (2001) com 11,5%; SANTOS *et al.* (1997), com 11,1%, ALBUQUERQUE (2002) igual a 11,56%. SANTOS (1998) comparando as três cultivares de palma forrageira, palma redonda, miúda e gigante observaram que as cultivares não atenderam as exigências de matéria seca e proteína bruta na sua plenitude. Entretanto, neste trabalho, através do processo fermentativo, a palma forrageira enriquecida com levedura apresentou teores médios de matéria seca em torno de 14,0%, operando com as variáveis de entrada otimizadas. Observou-se que no decorrer do processo houve um aumento gradativo do percentual do teor de matéria seca à medida que se elevou a concentração inicial do inóculo do

nível inferior -1 (5%) para o nível superior +1 (15%). O aumento do percentual da matéria seca também pode ser explicada conforme o que ocorreu com a cactácea mandacaru sem espinhos, ou seja, grande variação na percentagem de matéria seca após o processo de enriquecimento protéico, evidenciando que houve um crescimento do microrganismo (levedura) e perda de água por evaporação conseqüentemente, maior concentração da matéria seca. Este fato também foi evidenciado por PERAZZO NETO (1999) quando utilizou o microrganismo *Aspergillus niger* no enriquecimento protéico da palma forrageira, obtendo-se teor de matéria seca correspondente a 8,92% em relação a 8,0% na forma "in natura".

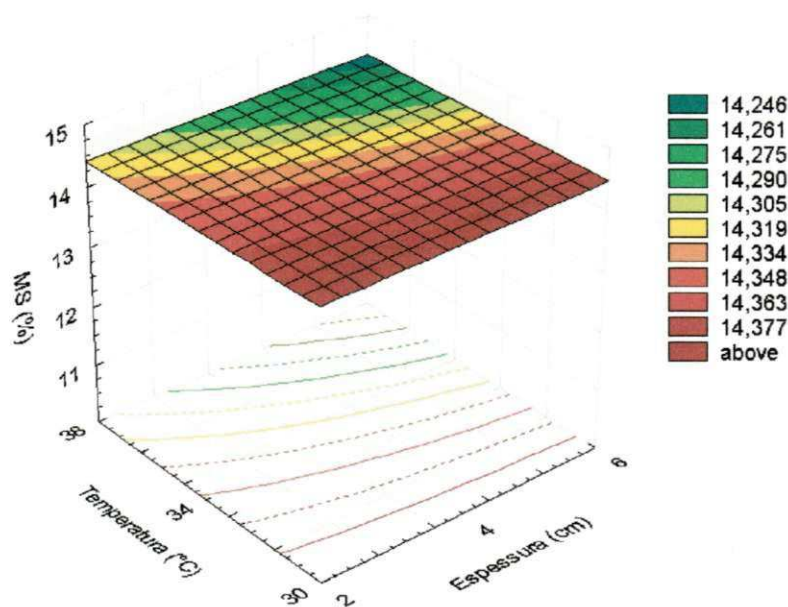


Figura 6.48 Efeitos de temperatura e espessura sobre o teor de matéria seca da palma forrageira; fixando-se a concentração no nível +1 (15%).

6.3.2.2 Análise de Superfície de Resposta para a Variável Proteína Bruta (PB) da Palma Forrageira Enriquecida com Levedura

A Figura 6.49, mostra a influência da concentração inicial do inóculo (C) e da temperatura (T) sobre a resposta teor de proteína bruta (PB). Observa-se que com a concentração inicial do inóculo acima de 10% para qualquer faixa de temperatura, tem-se um teor de proteína bruta acima de 25%.

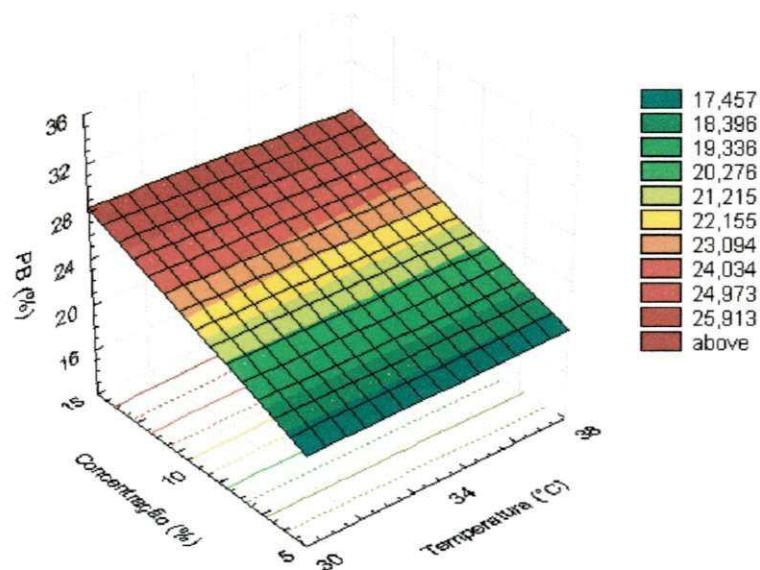


Figura 6.49 Influência das variáveis de entrada concentração inicial do inóculo (C) e temperatura (T) sobre o teor de proteína bruta da palma forrageira, fixando-se E no ponto central (4cm).

Da mesma forma que foi verificada na figura anterior, a Figura 6.50 mostra que a concentração inicial do inóculo (C) é a variável que apresenta o efeito mais significativo, influenciando positivamente na resposta proteína bruta (PB). Fixando-se a concentração acima de 10% para qualquer espessura da camada, obtém-se resposta acima de 24%.

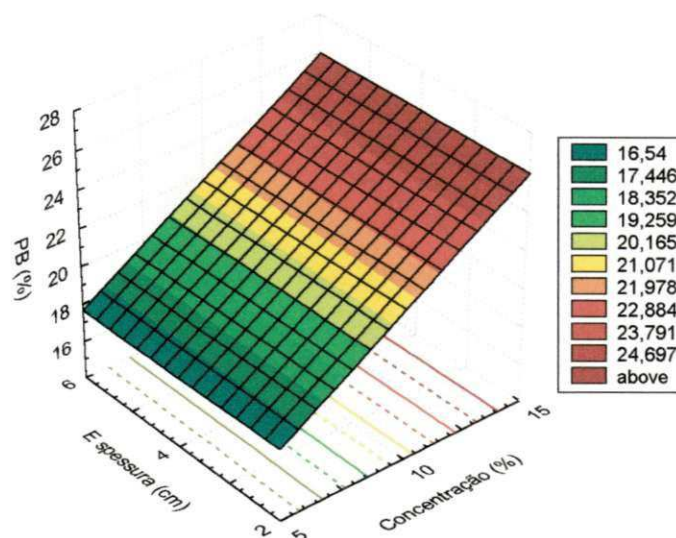


Figura 6.50 Influência das variáveis de entrada concentração inicial do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre o teor de proteína bruta da palma forrageira, fixando-se temperatura (T) no ponto central (34^oC).

A Figura 6.51 apresenta a superfície de resposta mostrando as influências dos fatores temperatura e espessura da camada sobre a resposta proteína bruta. Fixando-se a temperatura acima de 34°C e espessura da camada acima de 4cm, obtém-se teor de proteína bruta acima de 20%.

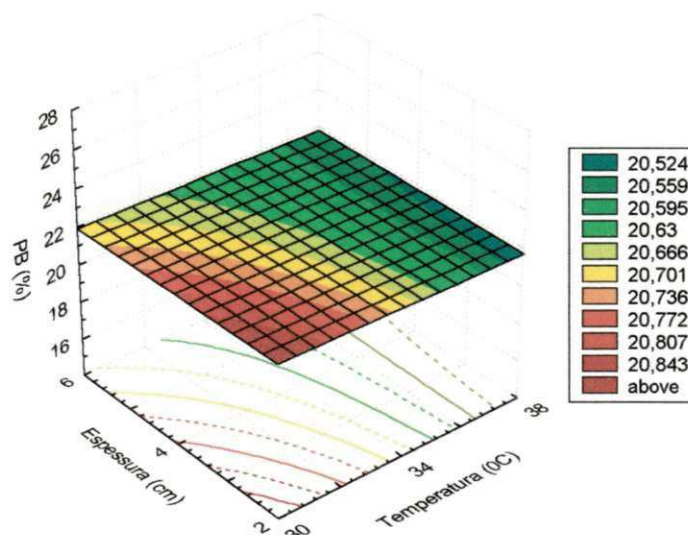


Figura 6.51 Influência das variáveis de entrada temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o teor de proteína bruta da palma forrageira, fixando-se C = 10% (ponto central).

Na Figura 6.52, que apresenta a influência da temperatura (T) e espessura da camada (E) variáveis que apresentam menor efeito sobre a resposta, em relação a variável concentração inicial do inóculo (C), fixando no nível +1 (15%), que tem influência positiva e bem maior que as outras duas. Verifica-se que operando com temperatura inferior a 34°C, em qualquer espessura da camada e concentração inicial do inóculo fixada no nível superior (15%), obtém-se teor de proteína bruta (PB) acima de 25%.

Pode-se observar que a percentagem de proteína bruta da palma forrageira enriquecida com levedura foi mais que o triplo do teor deste nutriente na cactácea em estudo na forma "in natura" correspondente a 7,9%. Valores menores de PB para a palma forrageira "in natura" foram encontrados por SANTOS *et al.* (1990) com 4,83%; ARAÚJO (1994) com 6,19%; BARBOSA (1998) igual a 5,5%; PERAZZO NETO (1999) com 7,4%; SEBRAE (2001) igual a 7,2%; ARAÚJO (2001) com 5,6%; ALBUQUERQUE (2002) igual a 3,6% e WANDERLEY (2002) com 4,15%. Valores maiores foram encontrados por TEIXEIRA (1999) quando realizou pesquisa que avaliava o valor nutritivo da palma forrageira em diversos cortes (bases juntas da 1ª, 2ª, 3ª e 4ª ordem) da raquete, obteve valores para os teores de proteína bruta variando de 9,23 a 13,86%.

O teor de proteína bruta da palma forrageira enriquecida proteicamente alcançou valor de 25% na base seca. Valores menores, iguais e maiores foram obtidos por PERAZZO NETO (1999), quando utilizou o microrganismo *Aspergillus niger* no enriquecimento protéico da palma forrageira valor igual a 21,36% de proteína bruta e CARVALHO (1999), desenvolveu uma pesquisa enriquecendo esta mesma cactácea utilizando os microrganismos *Fusarium* + uréia obteve um valor máximo em torno de 24% de proteína bruta e quando utilizou o *Aspergillus* + uréia alcançou até 34,6% e sem fonte de nitrogênio com estes mesmos microrganismos obteve valores correspondentes a 5,05 e 5,2 de proteína bruta, respectivamente.

Valores encontrados neste trabalho, depois do enriquecimento protéico estão de acordo com as especificações da norma de alimentação do NRC (1989), para compensar as deficiências do pasto na época da seca. Norma que recomenda uma suplementação protéica contendo teor de proteína bruta de 14 a 16% para vacas secas, 18% em rações iniciais para bezerros e de 20 a 24% ou mais dependendo da produção de vacas em lactação. Entretanto, a tendência dos resultados obtidos com a palma forrageira enriquecida com levedura nas condições deste trabalho, sugere a

utilização do bioproduto como uma alternativa viável para atender em parte as necessidades nutritivas dos animais na época de escassez de alimentos na região Semi-Árida .

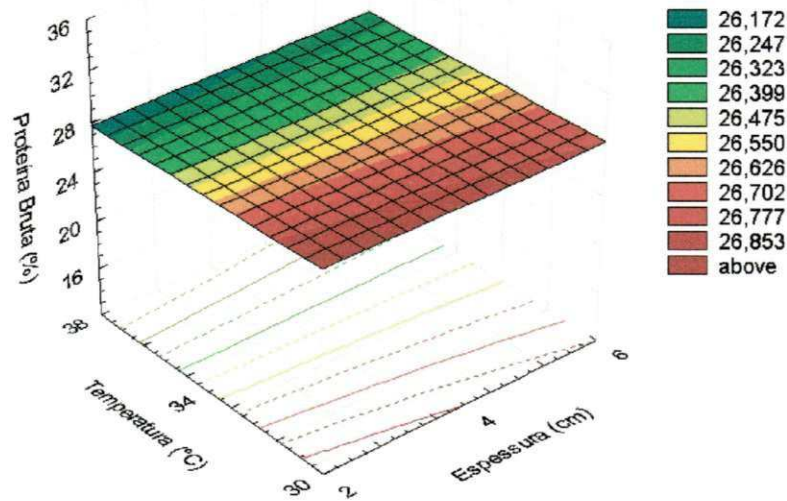


Figura 6.52 Efeitos de temperatura e espessura sobre o teor de proteína bruta da palma forrageira, fixando-se a concentração no nível +1 (15%).

6.3.2.3 Análise da Superfície de Resposta para a Variável Aumento da Percentagem do Teor de Proteína Bruta (APB) da Palma Forrageira Enriquecida com Levedura

Analisando a Figura 6.53, observa-se que, a concentração inicial do inóculo, apresenta um efeito positivo na resposta aumento da percentagem de proteína bruta (APB). Procedeu-se da mesma forma do estudo com o mandacaru sem espinhos, em função de ocorrer variação na percentagem de matéria seca (MS) no decorrer do processo de enriquecimento protéico, foi introduzida também a definição de percentagem de aumento da proteína bruta (APB), tentando explicar o crescimento do microrganismo no substrato fermentado, comparando com a percentagem deste nutriente contido no substrato na forma “in natura”.

Fixando-se a concentração acima de 10% em qualquer faixa de temperatura, obtém-se resposta acima de 370%.

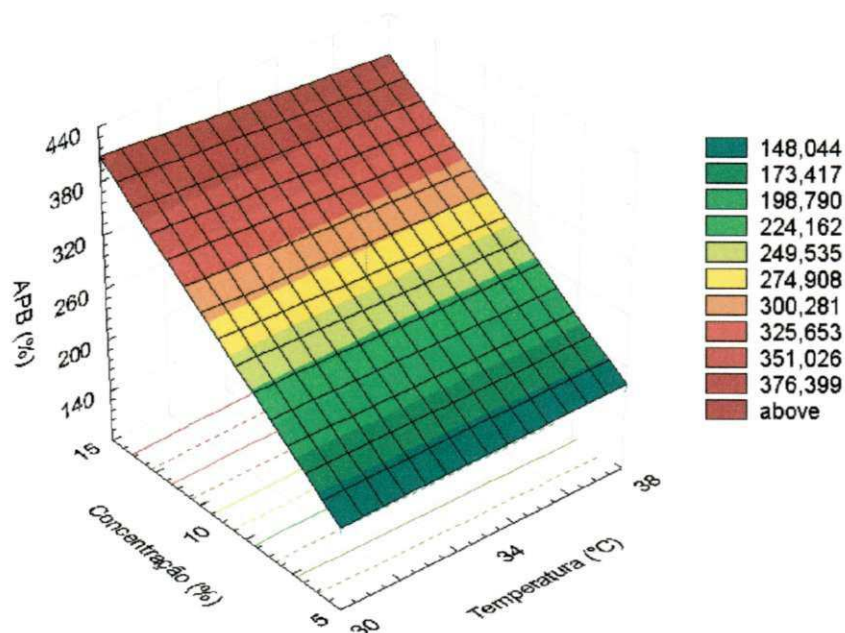


Figura 6.53 Influência das variáveis de entrada concentração inicial do inóculo (C) e temperatura (T) sobre o aumento da porcentagem do teor de proteína bruta da palma forrageira, fixando-se espessura da camada (E) no ponto central (4 cm).

A Figura 6.54 ilustra a superfície de resposta mostrando o efeito das variáveis independentes, concentração do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre a resposta aumento da porcentagem do teor de proteína bruta da palma forrageira. Foi verificado que o aumento da porcentagem do teor de proteína bruta (APB) atingiu um valor máximo acima de 370% quando fixa a concentração do inóculo em 15%, utilizando qualquer espessura da camada.

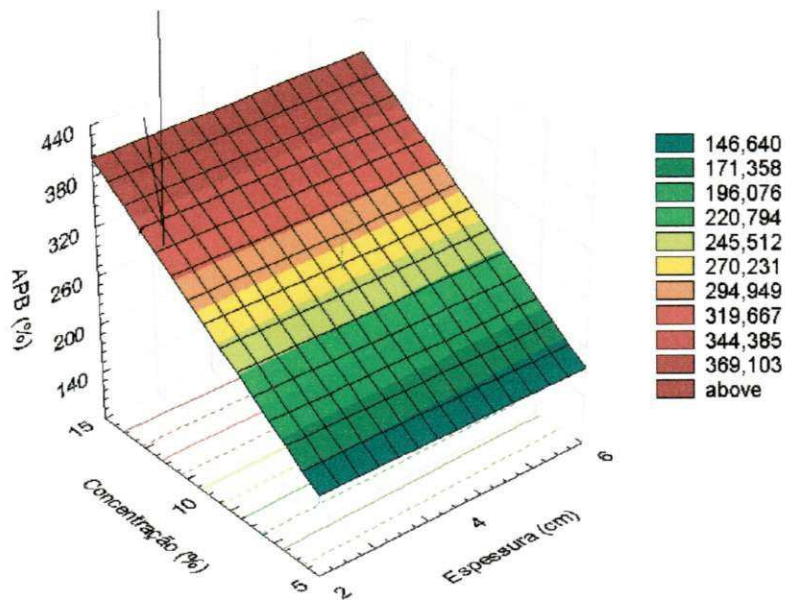


Figura 6.54 – Influência das variáveis de entrada concentração inicial do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre o aumento da porcentagem do teor de proteína bruta da palma forrageira, fixando-se temperatura (T) no ponto central (34°C).

A Figura 6.55 relaciona o efeito das variáveis temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre a resposta: aumento da porcentagem de proteína bruta (APB). Observa-se que fixando a temperatura em torno de 34°C e a espessura da camada em 4 cm, obtém-se um aumento na porcentagem de proteína bruta da palma forrageira enriquecida acima de 260%.

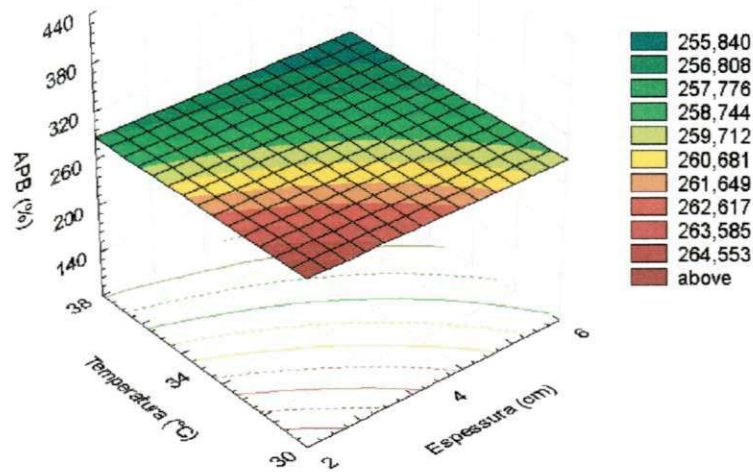


Figura 6.55 – Influência das variáveis de entrada temperatura (T) e da espessura da camada (E) sobre o aumento da porcentagem do teor de proteína bruta da palma forrageira, fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) no ponto central (10%).

Buscando-se encontrar os ótimos valores das três variáveis em estudo (C, T e E) que otimiza a resposta APB, construiu-se a Figura 6.56 que apresenta os efeitos de T e E, fixando-se C no valor ótimo (15%), na resposta APB. O maior valor para o aumento de proteína bruta (APB), valor acima de 400%, são obtidos quando fixa-se a concentração do inóculo no nível superior +1 (15%), temperatura acima de 34°C em uma espessura qualquer. Verifica-se aumento protéico no produto de aproximadamente 5 vezes do valor da palma (substrato “in natura”). Isto corrobora com o valor do item 6.3.3. Apenas diferença de três vezes para 5 vezes, que pode ser explicada pela definição de APB, ou seja, nesta resposta é considerado o aumento de matéria seca, assim se contabiliza o ganho em peso de proteína bruta.

Os elevados aumentos dos teores protéicos da palma forrageira atendem ao objetivo do trabalho, ou seja, produzir uma suplementação protéica que possa substituir os concentrados utilizados convencionalmente na ração animal.

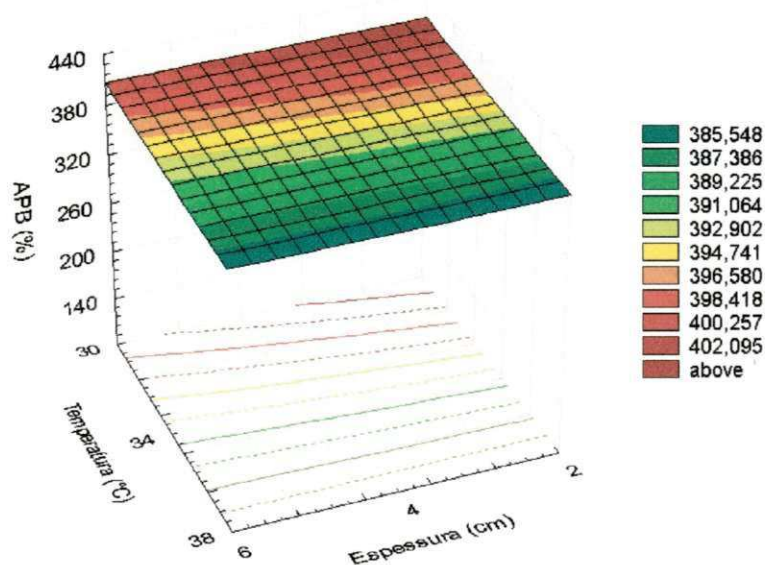


Figura 6.56 Efeitos de temperatura e espessura sobre o aumento da percentagem do teor de proteína bruta da palma forrageira; fixando-se a concentração no nível +1 (15%).

6.3.2.4 Análise da Superfície de Resposta para a Variável Proteína Verdadeira (PV) da Palma Forrageira Enriquecido com Levedura

Na Figura 6.57 pode-se avaliar a superfície de resposta mostrando as influências dos fatores concentração inicial do inóculo e temperatura sobre a resposta: teor de proteína verdadeira. Fixando-se a concentração inicial do inóculo acima de 10% e mantendo a temperatura acima de 34°C, obtém-se teor de proteína verdadeira acima de 9%.

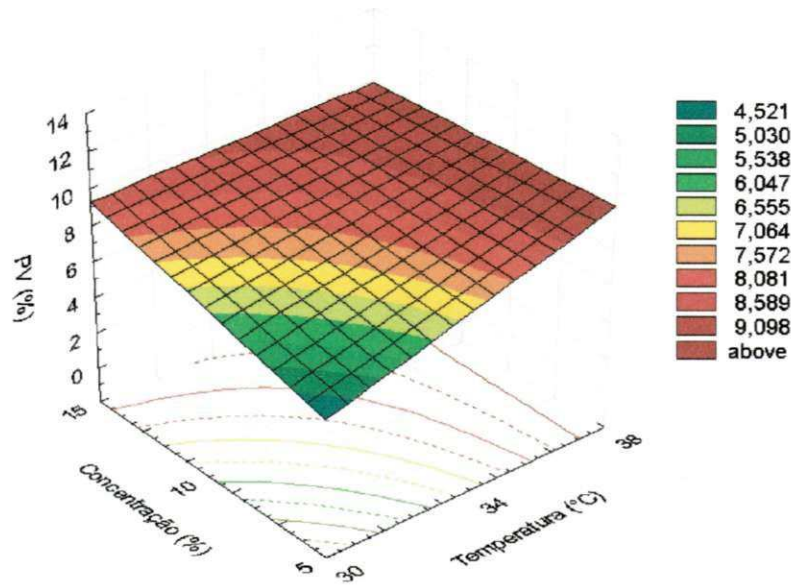


Figura 6.57 Influência das variáveis da concentração do inóculo (C) e a temperatura (T) sobre o teor de proteína verdadeira da palma forrageira, fixando-se a espessura (E) ponto central (4 cm).

A Figura 6.58 apresenta a superfície de resposta que relaciona os efeitos espessura da camada (E) e concentração do inicial do inóculo (C) em relação a resposta: teor de proteína verdadeira. Verifica-se que com a concentração inicial do inóculo acima de 10% para espessura da camada acima de 4cm, obtém-se teor de proteína verdadeira acima de 9%.

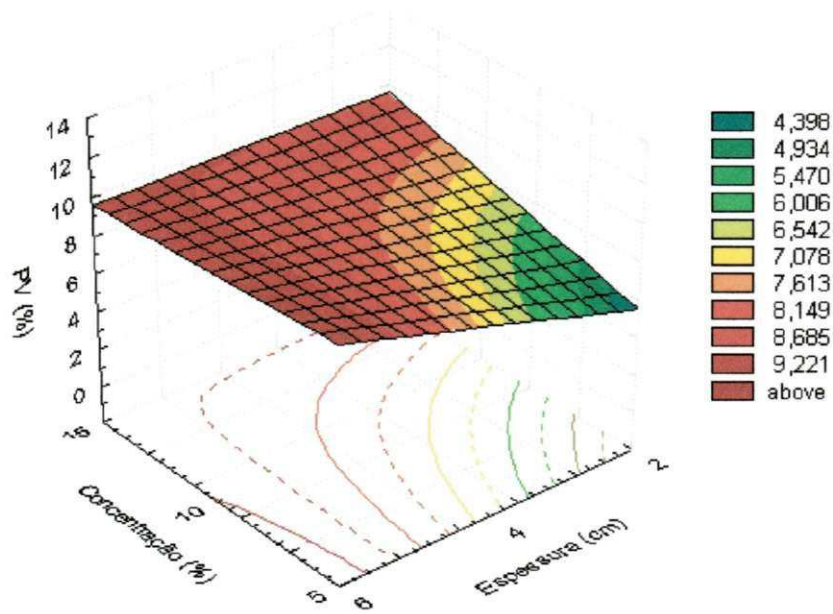


Figura 6.58 Influência da concentração do inóculo (C) e da espessura da camada (E) sobre o teor de proteína verdadeira da palma forrageira, fixando-se a temperatura (T) no ponto central (34°C).

A Figura 6.59 ilustra a influência das variáveis de entrada temperatura (T) e espessura de camada (E) sobre a percentagem do teor de proteína verdadeira. Fixando-se a temperatura acima de 34°C e a espessura da camada acima de 4 cm, obteve-se percentagem da proteína verdadeira acima de 9%.

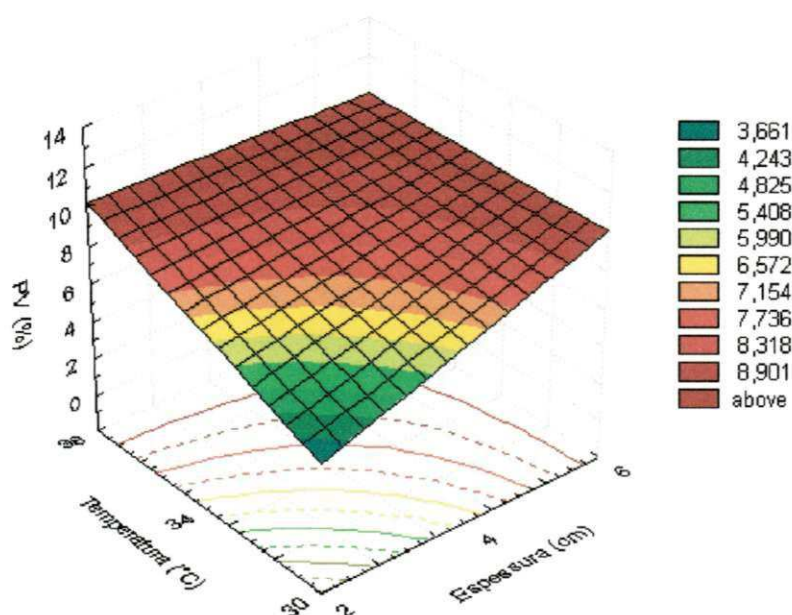


Figura 6.59 Influência da temperatura (T) e da espessura da camada (E) sobre o teor de proteína verdadeira da palma forrageira, fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) no ponto central (10%).

Observa-se que a Figura 6.60 apresenta a superfície de resposta mostrando as relações dos fatores de temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre a resposta: teor de proteína verdadeira, fixando-se a concentração do inóculo no nível +1 (15%). Esta figura facilita a observação dos valores das variáveis C, T e E que otimiza a resposta em estudo. Operando-se com a temperatura acima de 34°C e espessura acima de 4cm e concentração inicial do inóculo (C) em 15%, obtém-se teor de proteína verdadeira acima de 9%.

A palma forrageira na forma "in natura" utilizada nesta pesquisa, apresentou teor médio de proteína verdadeira (PV) igual a 4,49%, valor próximo foi obtido por PERAZZO NETO (1999), com 3,44%.

Após o enriquecimento protéico da palma forrageira, obteve-se um aumento no teor de proteína verdadeira que alcançou valor acima de 11%, conforme tabela 6.3. Valores menores foram obtidos por CARVALHO (1999), que trabalhando com enriquecimento protéico da palma forrageira com os microorganismos *Fusarium*, *Fusarium* + uréia, *Aspergillus* e *Aspergillus* + uréia, os respectivos valores máximos de proteína verdadeira (PV) foram, 3,4; 6,1; 3,8; e 7,5%. Porém foi inferior ao verificado por PERAZZO NETO (1999), com 15,03%. Os valores de proteína verdadeira (PV) encontrados nas condições deste trabalho foram similares aos encontrados nas

literaturas com base em dados do NRC (1989), dentre eles o feno de alfafa após floração (9,3%), alfafa do Nordeste (9,5%), farelo de trigo (11,0%). Porém, foi menor que o teor de proteína verdadeira (PV) da semente de girassol (13,0%), soro de queijo em pó (13,8%) e farelo de coco com 15,4%.

Conforme JARDIM (1995) a determinação da proteína verdadeira é de suma importância não só para os monogástricos como também para os ruminantes que através dos microrganismos do rumem, equilibra suas atividades metabólicas, produzindo proteínas microbianas, sobre outros alimentos concentrados e volumosos. Refletindo desta maneira na produção e qualidade do leite, uma vez que o gado leiteiro utiliza a proteína verdadeira para este fim.

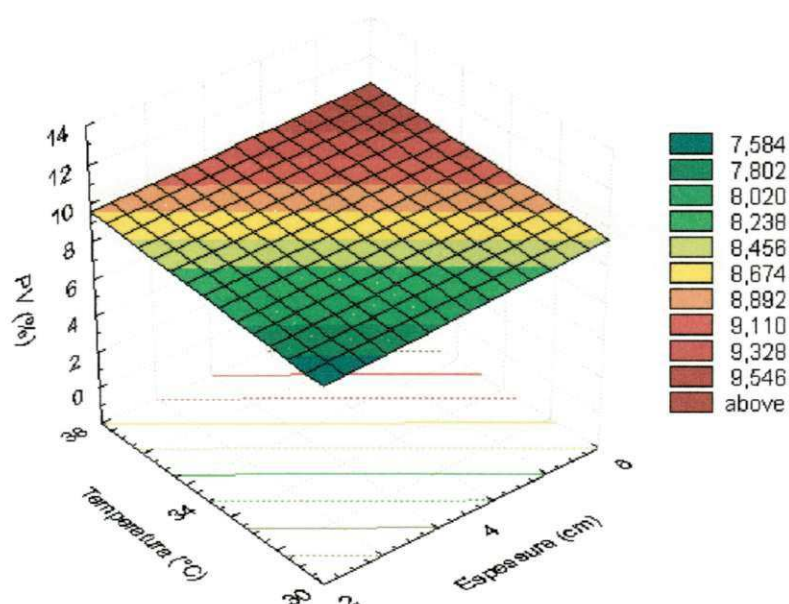


Figura 6.60 Efeitos de temperatura e espessura sobre o teor de proteína verdadeira da palma forrageira; fixando-se a concentração no nível +1 (15%).

6.3.2.5 Análise da Superfície de Resposta para a Variável Aumento da Percentagem de Proteína Verdadeira (APV) da Palma Forrageira Enriquecida com Levedura

A Figura 6.61 apresenta a influência da concentração inicial no inóculo (C) e temperatura (T) sobre o aumento da percentagem de proteína verdadeira (APV). Tendo o mesmo objetivo do aumento da percentagem do teor de proteína bruta (APB).

Observa-se que a variável concentração do inóculo (C) apresenta um efeito positivo na resposta: aumento da percentagem de proteína verdadeira, ou seja, quando há aumento da concentração inicial do inóculo do nível -1 (5%) para o nível +1 (15%), ocorre um aumento bastante significativo na percentagem de proteína verdadeira. Fixando-se a concentração inicial do inóculo acima de 10% em uma faixa de temperatura qualquer, obtém-se um aumento na percentagem de proteína verdadeira acima de 250%. O mesmo perfil observado para a resposta: aumento de percentagem de proteína bruta (APB).

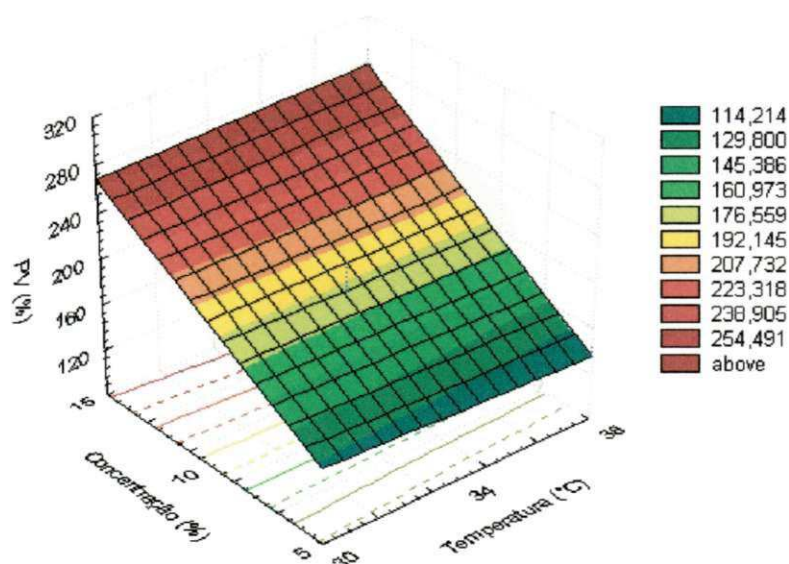


Figura 6.61 Influência da concentração inicial do inóculo e temperatura (T) sobre o aumento da percentagem de proteína verdadeira da palma forrageira fixando-se a espessura da camada (E) no ponto central (4cm).

A Figura 6.62 ilustra a superfície de resposta relacionada com as variáveis de entrada concentração inicial do inóculo (C) e espessura da camada (E). Observa-se que fixando a concentração inicial do inóculo acima de 10% e utilizando qualquer espessura da camada, obtém-se um aumento na resposta (APV) acima de 260%.

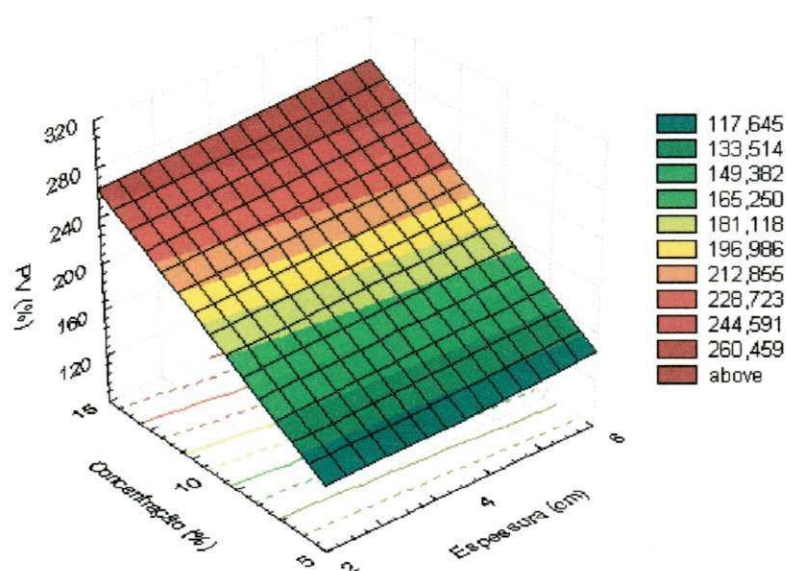


Figura 6.62 Influência da concentração inicial do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre o aumento da porcentagem de proteína verdadeira da palma forrageira, fixando-se a temperatura (T) no ponto central (34°C).

Conforme a Figura 6.63 observa-se os efeitos das variáveis de entrada temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre a resposta: aumento da porcentagem de proteína verdadeira (APV). Verifica-se que as variáveis de entrada T e E apresentam poucos efeitos significativos sobre a resposta. Quando fixa-se a espessura da camada acima de 4 cm e temperatura abaixo de 34°C , obtém-se porcentagem de aumento de proteína verdadeira acima 199%.

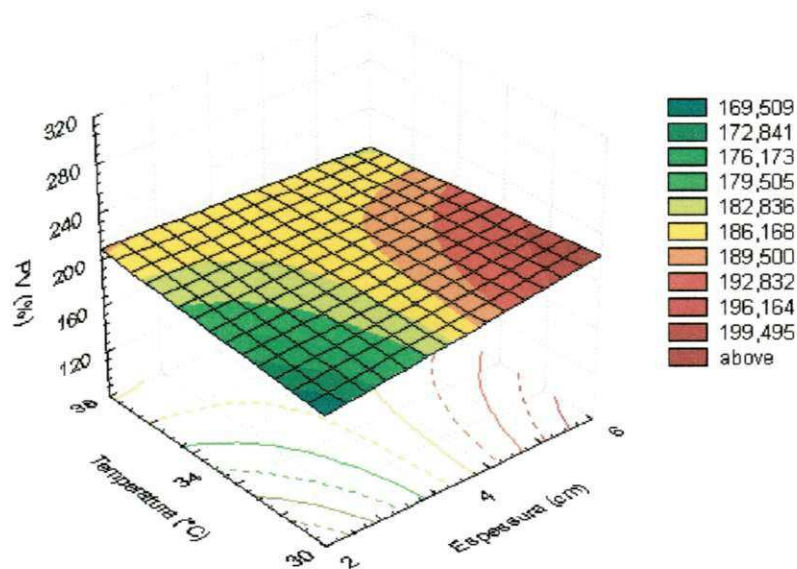


Figura 6.63 Influência da temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o aumento da porcentagem de proteína verdadeira (APV) da palma forrageira, fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) no ponto central (10%).

Para facilitar na observação de valores ótimos de operação das variáveis de entrada, construiu-se a Figura 6.64 que apresenta a influência das variáveis temperaturas (T) e espessura da camada (E) sobre a resposta: porcentagem de aumento da proteína verdadeira (APV). Fixando a concentração inicial do inóculo no nível +1 (15%), a temperatura acima de 34°C e espessura acima de 4 cm têm-se mais de 276% da resposta em estudo. Esses valores de operação das variáveis de entrada para maximização do valor da resposta (APV), apresenta como o mandacaru sem espinhos, valores similares aos encontrados para % PB, APB, e PV, confirmando dessa maneira a correlação destas respostas.

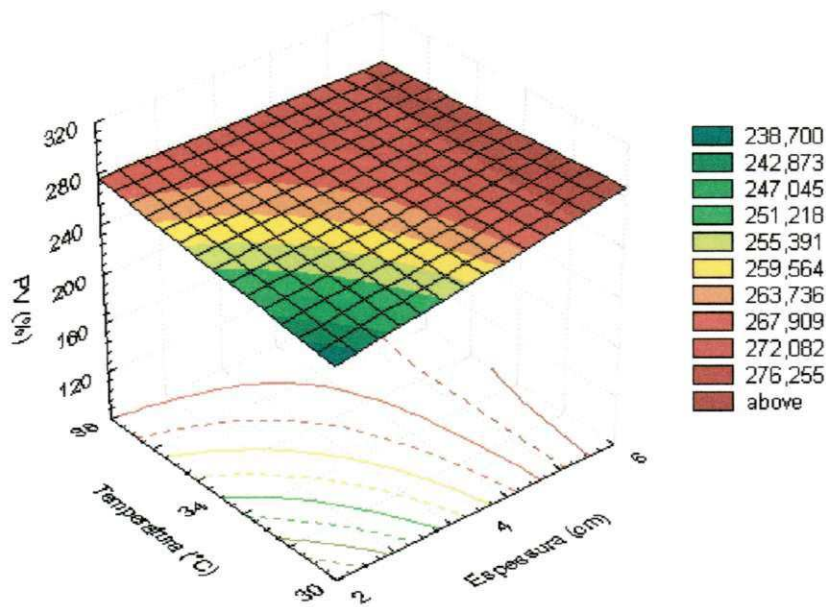


Figura 6.64 Efeitos de temperatura e espessura sobre o aumento da percentagem do teor de proteína verdadeira da palma forrageira; fixando-se a concentração no nível +1 (15%).

6.3.2.6 Análise da Superfície de Resposta para a Variável Teor de Fibra em Detergente Ácido (FDA) da Palma Forrageira Enriquecida com Levedura

Na Figura 6.65, observa-se à superfície de resposta que mostra as relações das variáveis de entrada temperatura (T) e concentração inicial do inóculo (C) sobre a resposta: teor de fibra em detergente ácido (FDA). Verifica-se que a variável concentração inicial do inóculo mantida abaixo de 10%, e temperatura acima de 30°C, obtém-se um aumento no teor de fibra em detergente ácido acima de 23%.

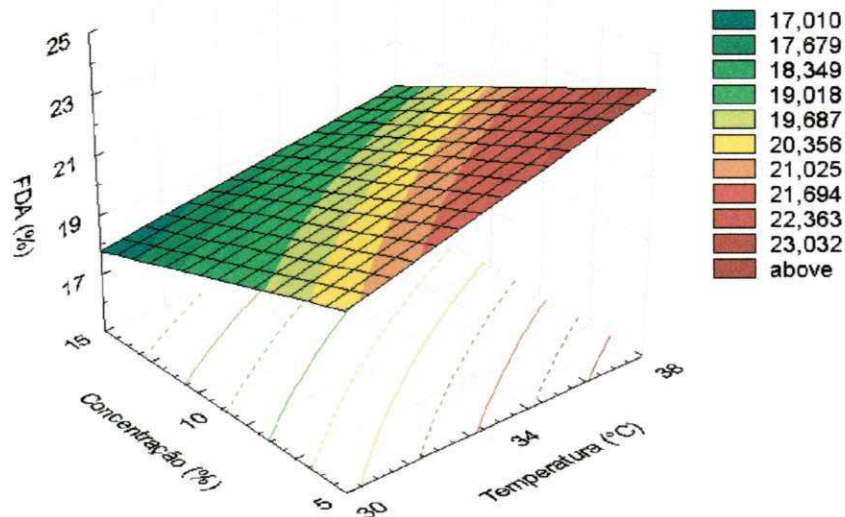


Figura 6.65 Influência da variável concentração do inóculo (C) e temperatura (T) sobre a resposta aumento do teor de fibra em detergente ácido (FDA) da palma forrageira, fixando-se da camada (E) no ponto central (4cm).

Observa-se que a Figura 6.66 apresenta a superfície de resposta da influência de cada variável independente, concentração inicial do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre a resposta: teor de fibra em detergente ácido (FDA). Verifica-se que a concentração inicial do inóculo influencia negativamente sobre a resposta em estudo. Fixando-se a concentração inicial do inóculo abaixo de 10% em espessura qualquer da camada, obtém-se valor de FDA acima de 21%.

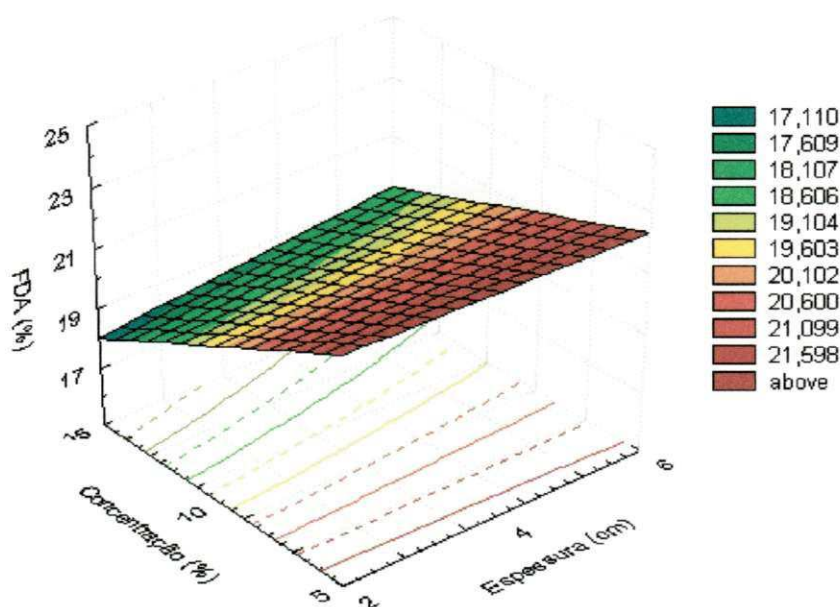


Figura 6.66 Influência da concentração inicial do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre o teor de fibra em detergente ácido (FDA) da palma forrageira, fixando-se a temperatura (T) no ponto central (34^oC).

Na Figura 6.67, observa-se que a superfície de resposta relaciona os fatores temperatura (T) e espessura da camada (E) com a resposta: fibra detergente ácido. Verifica-se que a temperatura (T) fixada em 38^oC e em qualquer espessura da camada consegue-se um aumento no teor deste nutriente (FDA) acima de 21%.

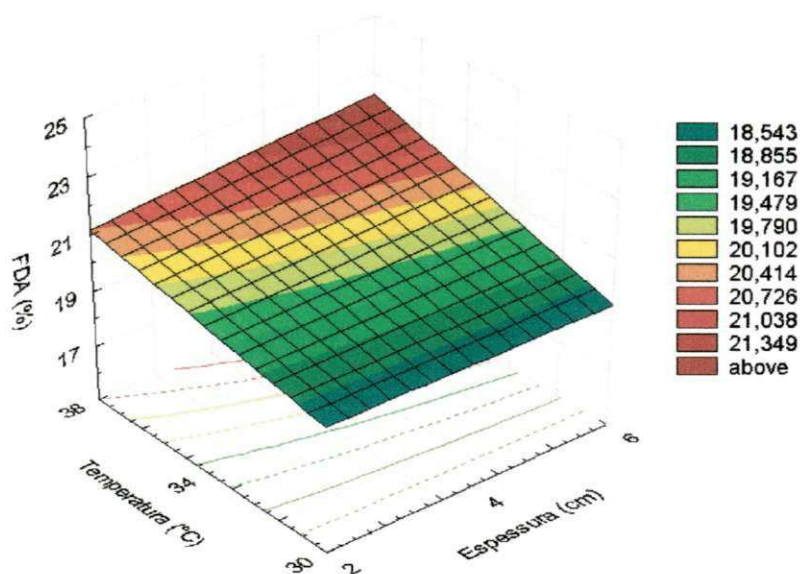


Figura 6.67 Influência da espessura da camada (E) e temperatura (T) sobre o teor de fibra em detergente ácido (FDA) da palma forrageira, fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) no ponto central (10%).

A Figura 6.68 ilustra a influência da temperatura (T) e espessura (E) sobre a resposta teor de fibra em detergente ácido (FDA), fixando a concentração inicial do inóculo no nível -1 (5%). Esta superfície de resposta facilita a verificação do valor otimizado da resposta. Nota-se que fixando a temperatura acima de 34°C e utilizando uma espessura qualquer, obtém-se um teor de fibra em detergente ácido acima de 23%.

Da mesma forma que ocorreu com o perfil do FDA da cactácea mandacaru sem espinhos, ocorreu nas determinações de FDA da palma forrageira, ou seja, a medida que se elevou a concentração inicial do inóculo no substrato em estudo, o teor de proteína bruta aumentou mas diminuiu o teor de FDA. Mesmo assim o teor de FDA encontrado no bioproduto está dentro das normas recomendadas pela NRC (1989) que é no mínimo 21%.

O valor de FDA encontrado para a palma forrageira na forma "in natura" foi de 13,60%, valore superior foi encontrado por TEIXEIRA (1999), correspondente a 14,5 %.

Com a otimização do processo de enriquecimento protéico da palma forrageira com levedura, obteve-se teor médio de FDA em torno de 23%, valores que está de acordo com as recomendações do NRC (1989), afirma que deve ser no mínimo de 21% quando o alimento for oferecido aos ruminantes.

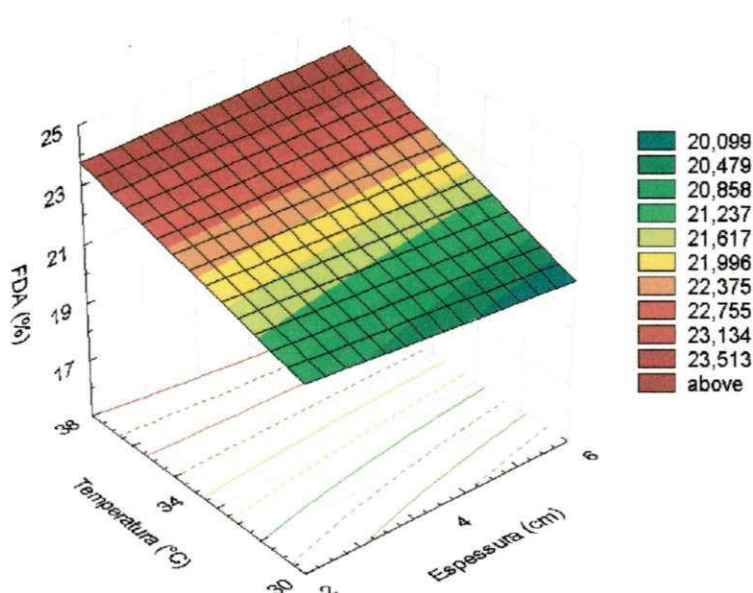


Figura 6.68 Efeitos de temperatura e espessura sobre o teor de fibra em detergente ácido (FDA) da palma forrageira; fixando-se a concentração no nível -1 (5%).

6.3.2.7 Análise da Superfície de Resposta para a Variável Teor de Fibra em Detergente Neutro (FDN) da Palma Forrageira Enriquecida com Levedura

A Figura 6.69, ilustra os efeitos das variáveis, concentração inicial do inóculo (C) e a temperatura (T) sobre a resposta: fibra em detergente neutro (FDN). verifica-se que a concentração inicial do inóculo apresentou influência negativa, ou seja, quando passa do nível inferior -1 (5%) para o nível superior +1 (15%) ocorre um decréscimo no teor de FDN. Quando fixa-se a concentração inicial do inóculo abaixo de 10%, em uma faixa qualquer de temperatura, obtém-se percentagem de FDN acima de 43%.

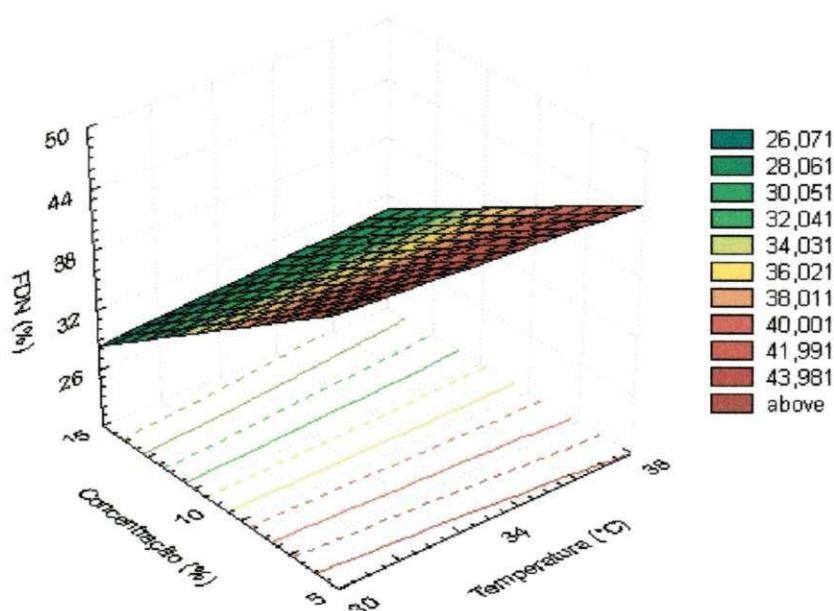


Figura 6.69 Influência da concentração do inóculo (C) e temperatura (T) sobre o teor de fibra em detergente neutro (FDN) da palma forrageira, fixando-se a espessura da camada (E) no ponto central (4cm).

Na Figura 6.70 observa-se às influências das variáveis independentes, concentração inicial do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre a resposta: fibra detergente neutro (FDN). Verifica-se que a concentração inicial do inóculo teve influência negativa sobre a resposta em estudo. Fixando-se a concentração inicial do inóculo abaixo de 10%, em qualquer espessura da camada, obtém-se percentagem do teor de FDN a cima de 44%.

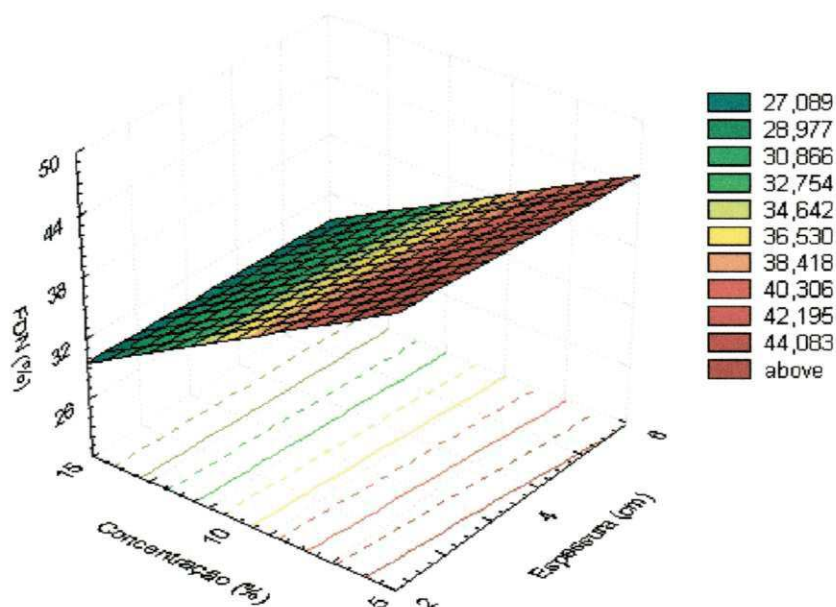


Figura 6.70 Influência da concentração do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre o teor de fibra em detergente neutro detergente (FDN) da palma forrageira, fixando-se a temperatura (T) no ponto central (34^oC).

Analisando a Figura 6.71 observa-se que os efeitos das variáveis independentes, espessura da camada (E) e temperatura (T) sobre a resposta (FDN). Verifica-se que a variável de entrada espessura da camada (E) e temperatura (T) não apresentam influências significativas sobre a resposta em estudo. Quando fixa-se a espessura da camada acima de 2cm e temperatura acima de 30°C, obtém-se percentagem de FDN em torno de 36%.

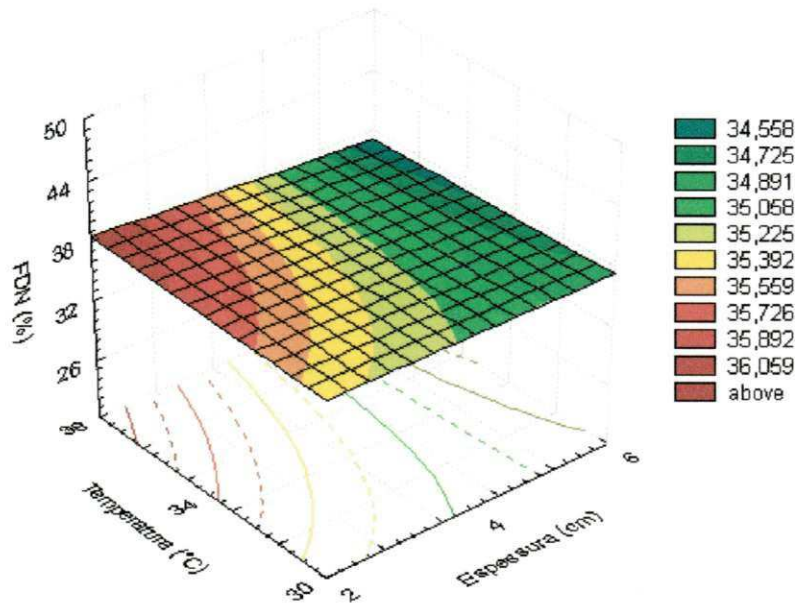


Figura 6.71 Influência de temperatura e espessura da camada sobre o teor de fibra em detergente neutro (FDN) da palma forrageira, fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) no ponto central (10%).

A Figura 6.72 apresenta a superfície de resposta que relaciona os efeitos da temperatura (T) e da espessura da camada (E) em relação ao teor de fibra em detergente neutro, fixando-se a concentração no nível -1 (5%). Verifica-se que a temperatura fixada na faixa de 38°C e espessura da camada de 6 cm, obtém-se o teor de FDN acima de 46%.

A palma forrageira na forma “in natura” obteve teor de FDN igual a 20,85%. Este valor está abaixo do valor mínimo recomendado pela NRC (1989) igual a 28%. Essa forrageira apresenta limitações no teor de proteína e fibra quando utilizadas como principal ingrediente nas dietas de vaca em lactação, apresentando, baixo consumo de matéria seca e fibra pelo animal com conseqüente perda de peso, baixo desempenho, distúrbios metabólicos, especialmente diarreias e diminuição no teor de gordura do leite, SANTOS *et al.* (1992). Entretanto, o fornecimento desta cactácea não é possível atender em plenitude as necessidades nutricionais do rebanho. Como uma das alternativas para suprir estas deficiências da palma forrageira utilizou-se a levedura no enriquecimento protéico desta cactácea e obteve além do aumento de proteína discutido anteriormente, houve também aumento no teor de FDN em torno de 46%.

Da mesma forma que ocorreu com a determinação do teor de FDA, ocorreu nas determinações de FDN, ou seja, a medida que elevou-se a concentração inicial do

inóculo no substrato em estudo, o teor de proteína bruta aumentou e conseqüentemente o teor de FDN diminuiu, mesmo assim os teores de FDN encontrados no bioproduto está de acordo com as recomendações do NRC (1989) que é estipulado no mínimo de 28%, para alimentação dos ruminantes. MATTOS (2002), alimentando vacas mestiças em lactação, com palma forrageira associada a diferentes volumosos com níveis acima do recomendado pela NRC (1989), não verificou alteração no teor de gordura do leite .

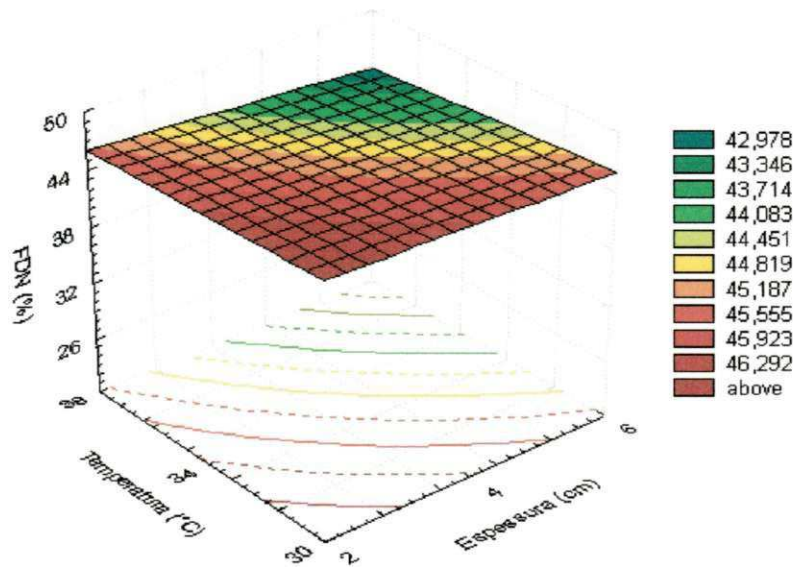


Figura 6.72 Influência de temperatura e espessura da camada sobre o teor de fibra em detergente neutro da palma forrageira; fixando-se a concentração inicial –1 (5%).

6.3.2.8 Análise da Superfície de Resposta para a Variável Hemicelulose (HC) da Palma Forrageira Enriquecida com Levedura

A Figura 6.73, ilustra a superfície de resposta das influencias das variáveis independentes temperatura (T) e concentração inicial do inóculo (C) sobre a resposta teor de hemicelulose. Da mesma forma que ocorreu com a cactácea mandacaru sem espinhos enriquecido com levedura, ocorreu com a palma forrageira também enriquecida com o mesmo microrganismo. Verificou-se que a variável independente temperatura não influenciou sobre a resposta em estudo. Fixando-se a concentração inicial do inóculo abaixo de 10%, independente da faixa de temperatura estudada, obtém-se percentagem de hemicelulose acima da 24%.

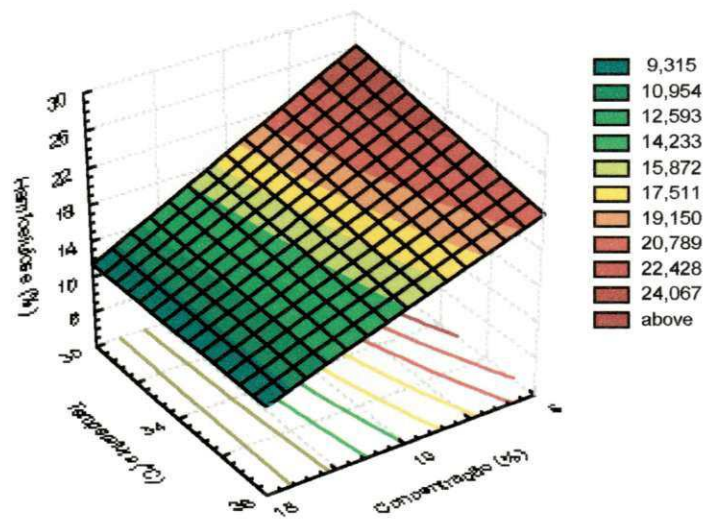


Figura 6.73 Influência da concentração do inóculo (C) e temperatura (T) sobre o teor de hemicelulose da palma forrageira, fixando-se a espessura (E) no ponto central (4cm).

Observando a Figura 6.74, verificou-se que, a variável espessura da camada (E) apresenta pequeno efeito sobre a resposta teor de hemicelulose. Pode-se observar, operando com a concentração inicial do inóculo abaixo de 10% para qualquer nível de espessura, obtém-se percentagem de hemicelulose acima de 22%.

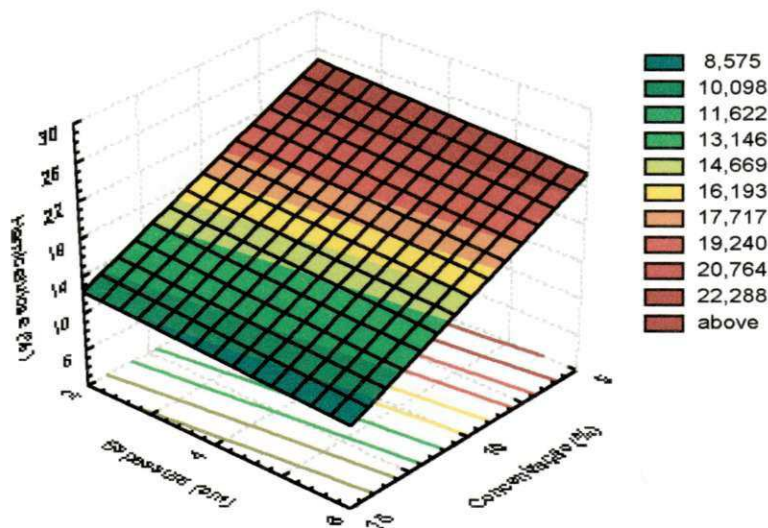


Figura 6.74 Influência da concentração do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre o teor de hemicelulose da palma forrageira, fixando-se a temperatura (T) no ponto central (34°C).

Através da Figura 6.75, verifica-se que as variáveis independentes espessura da camada (E) e temperatura (T) apresentaram pequenas influências positivas sobre a hemicelulose. Nota-se que, praticamente, para qualquer espessura da camada (E) e temperatura (T), fixando a concentração no ponto central (10%), obtém-se teor de hemicelulose em torno de 16%.

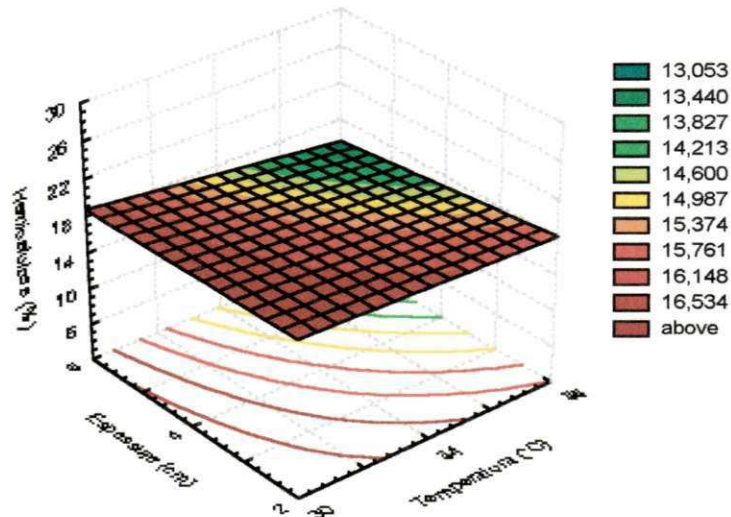


Figura 6.75 Influência da espessura da camada e temperatura sobre o teor de hemicelulose da palma forrageira, fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) no ponto central (10%).

Observando a Figura 6.76 que apresenta a superfície de resposta com a variável concentração inicial do inóculo no nível inferior -1 (5%), resumindo as três superfícies de resposta anteriormente apresentadas. Verifica-se que fixando a temperatura acima de 34°C e em qualquer espessura, o maior valor de percentagem encontrada para a resposta em estudo é em torno de 25%.

A palma forrageira na forma “in natura” analisada nas condições deste trabalho, apresentou teor de hemicelulose igual a 7,25%, após o enriquecimento protéico desta forragem foram encontrados valores deste nutriente variando até 26%.

Tanto na determinação de FDA como FDN, que o aumento da proteína é inversamente proporcional à produção de fibras, ou seja, o teor de proteína bruta (PB) e proteína verdadeira (PV) aumentam com a diminuição dos teores de fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN), este comportamento foi também acompanhado na determinação da hemicelulose.

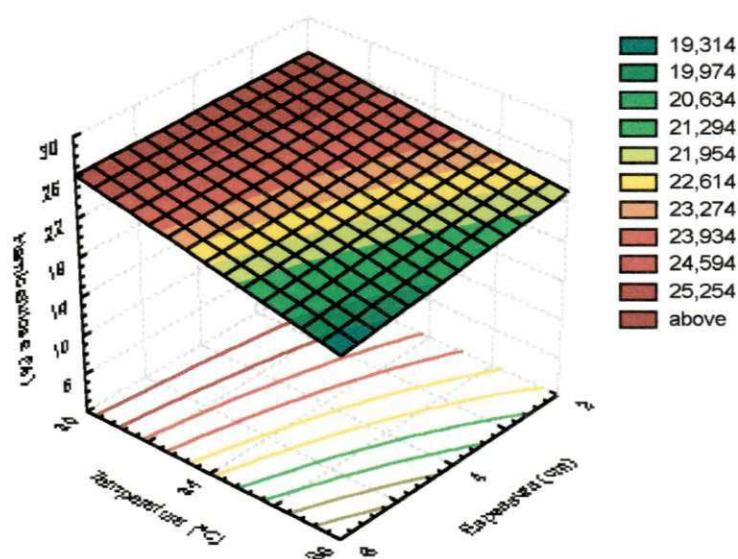


Figura 6.76 Efeitos da espessura da camada (E) e temperatura (T) sobre o teor de hemicelulose; fixando-se a concentração no nível -1 (5%).

6.3.2.9 Análise da Superfície de Resposta para a Variável Energia Bruta (EB) da Palma Forrageira Enriquecida com Levedura

A Figura 6.77, mostra a influência da temperatura (T) e concentração do inóculo (C) sobre a resposta energia bruta (EB). Fixando-se a concentração inicial do inóculo acima de 10%, em qualquer faixa de temperatura, obtém-se um aumento de energia bruta (EB) acima de 4.000 cal/g.

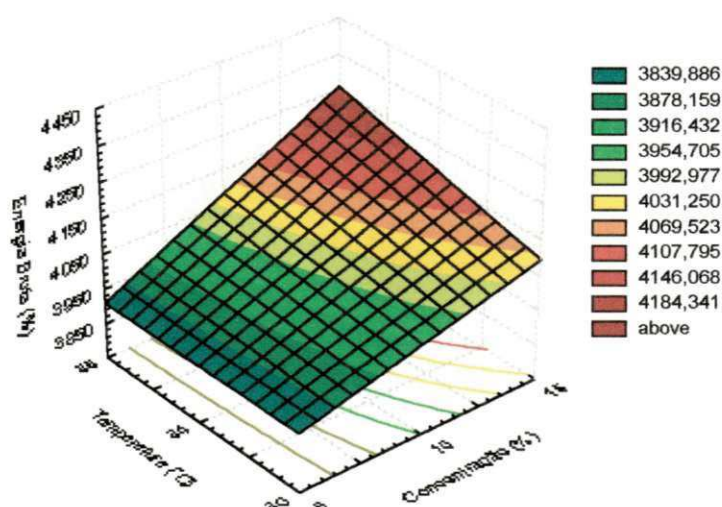


Figura 6.77 Influência da concentração do inóculo (C) e temperatura (T) sobre o teor de energia bruta da palma forrageira, fixando-se a espessura da camada (E) no ponto central (4cm).

Através da Figura 6.78, como as demais superfícies de resposta estudadas até agora a variável concentração inicial do inóculo apresenta o maior efeito dentre as três variáveis de entrada estudadas. Verifica-se que operando com a concentração inicial do inóculo acima de 10% para qualquer valor de espessura, obtém-se um valor de energia bruta (EB) acima de 4.000 cal/g.

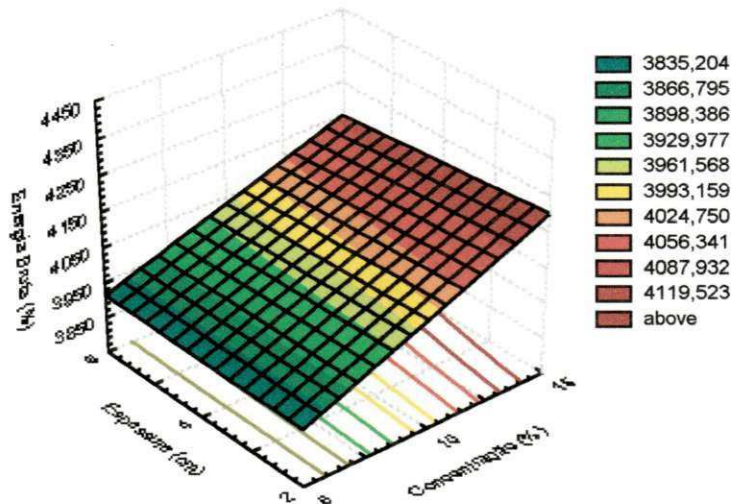


Figura 6.78 Influência da concentração do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre o teor de energia bruta da palma forrageira, fixando-se a temperatura (T) no ponto central (34^oC).

A Figura 6.79 ilustra a superfície de resposta mostrando as influências dos fatores espessura da camada e temperatura sobre a resposta: teor de energia bruta. Fixando-se a temperatura acima de 34^oC para qualquer espessura da camada, obtém-se um teor de energia bruta acima de 4.000 cal/g.

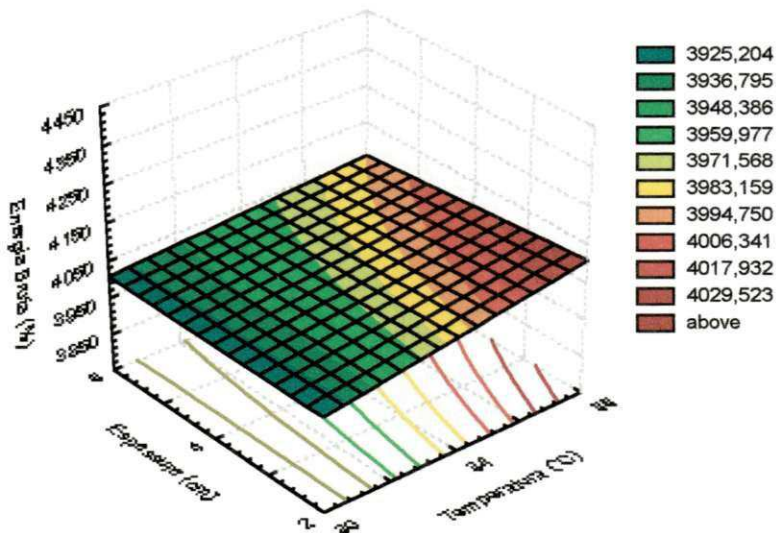


Figura 6.79 Influência da temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o teor de energia bruta da palma forrageira, fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) no ponto central (10%).

Analisando a Figura 6.80 observa-se que a variável temperatura (T) apresenta um efeito positivo na resposta teor da energia bruta (EB). Enquanto a variável espessura da camada (E) não influencia de maneira significativa à resposta em estudo. Operando com a temperatura acima de 34°C para qualquer espessura da camada e concentração inicial do inóculo em 15% (valor otimizado), obtém-se teor de energia bruta de 4.300 cal/g.

A palma forrageira na forma "in natura" analisada nas condições deste trabalho apresentou teor de energia bruta igual a 3.720 cal/g, valores inferiores e iguais foram encontrados por ARAÚJO (1994), com 3.687; BARBOSA (1998) igual a 3.414 cal/g; PERAZZO NETO (1999) com 4.066 cal/Kg; ARAÚJO (2001) com 3.686 cal/g. Após enriquecimento protéico a palma forrageira apresentou teores de energia bruta (EB) de aproximadamente 4.300 cal/g.

A cactácea palma forrageira apresenta altos teores de energia bruta. Isto significa que a mesma possui carboidratos, principalmente monossacarídeos na sua composição química que podem ser utilizados pelos microrganismos no processo de fermentação, além de serem considerados uma das principais fontes de calor e energia. Corroborando SANTOS (1990) afirma que a palma forrageira apresenta em média 57,94% de carboidratos solúveis, dos quais são transformados em energia valores bastante promissores para serem utilizados pelos microrganismos na síntese de proteína, produzindo um bioproduto que venha atender parte das necessidades nutritivas dos animais. Além da importância dos carboidratos que se transformam em energia para manter a temperatura do corpo, formação de gordura no organismo, atividade muscular, processo digestivo e manutenção da vida do feto em vacas prenhas. É também de suma importância a determinação do valor energético para a alimentação do gado leiteiro que utiliza este nutriente para a produção de gordura e açúcar do leite. Portanto, foi muito positivo o resultado da pequena oscilação encontrada no teor de energia bruta do produto fermentado, que sugere uma instabilidade entre o consumo e a produção de carboidratos durante o processo, uma vez que o microrganismo utiliza os carboidratos para a síntese de proteína.

O próprio microrganismo (levedura) apresenta em sua parede celular concentração alta de carboidratos, principais fontes de energia.

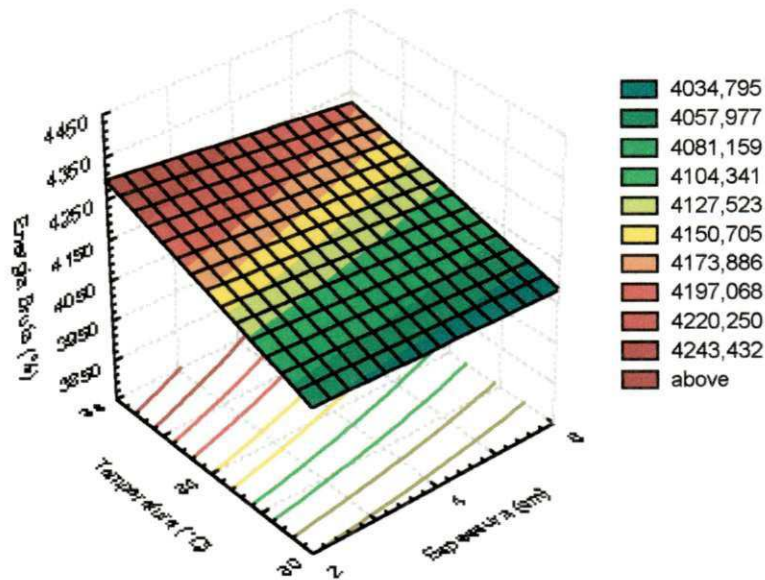


Figura 6.80 Influência da temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o teor de energia bruta da palma forrageira; fixando-se a concentração inicial no nível de +1 (15%).

6.3.2.10 Análise de Superfície de Resposta para a Variável Matéria Orgânica (MO) da Palma Forrageira Enriquecida com Levedura

Na Figura 6.81, observa-se os efeitos das variáveis temperatura (T) e concentração inicial do inóculo (C) sobre a resposta: teor de matéria orgânica (MO). Operando com a variável concentração inicial do inóculo abaixo de 10%, em qualquer faixa de temperatura, obtém-se teor de matéria orgânica (MO) acima de 86%.

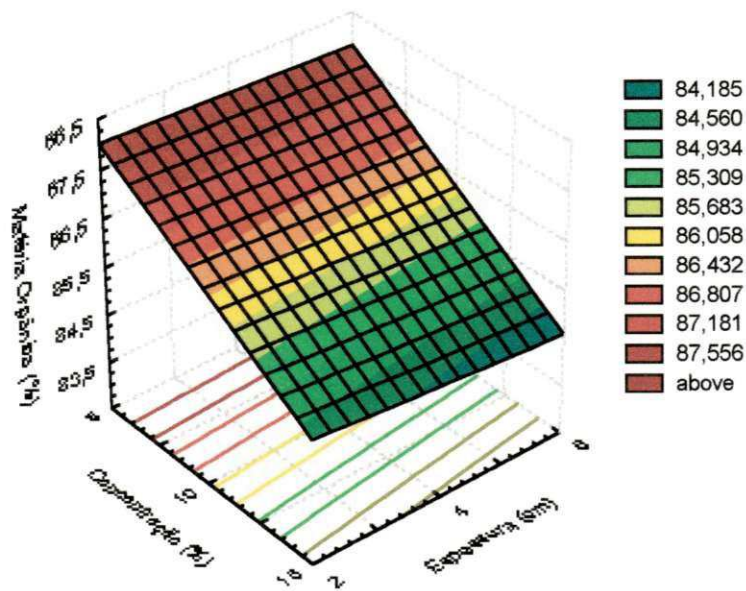
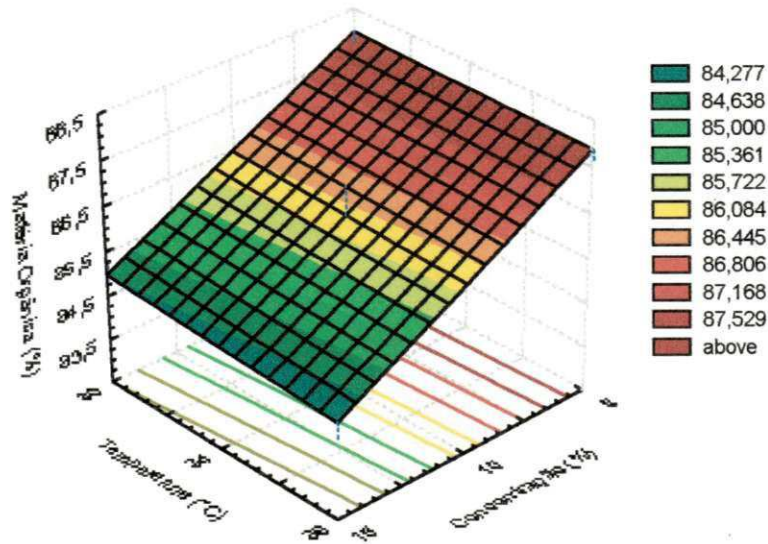
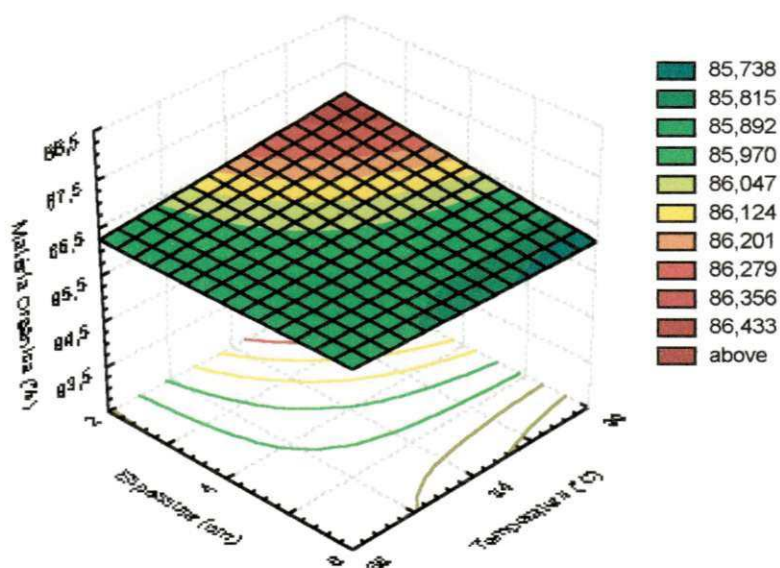


Figura 6.81 Influência da concentração do inóculo (C) e temperatura (T) sobre o teor de matéria orgânica (MO) da palma forrageira, fixando-se a espessura (E) ponto central (4cm).

A Figura 6.82 ilustra a superfície de resposta mostrando o efeito das variáveis independentes, concentração inicial do inóculo (C) e espessura de camada (E) sobre a resposta: teor de matéria orgânica da palma forrageira enriquecida com levedura. Foi verificado que o aumento do teor de matéria orgânica alcançou um valor máximo em 87%, quando fixa-se a concentração inicial do inóculo abaixo de 10%, utilizando qualquer espessura da camada.



6.82 Influência da concentração do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre o teor de matéria orgânica (MO) da palma forrageira, fixando-se a temperatura (T) no ponto central (34°C).



A Figura 6.83 ilustra a superfície de resposta das influências de temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre a resposta teor de MO. Fixando-se a temperatura abaixo de 34°C e espessura abaixo de 4 cm, obtém-se o teor de matéria orgânica (MO) em torno de 86%.

Figura 6.83 Influência da temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o teor de matéria orgânica (MO) da palma forrageira, fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) no ponto central (10%).

Analisando a Figura 6.84, observa-se que após o enriquecimento protéico da palma forrageira, a mesma apresentou comportamento idêntico ao de FDN e FNA e hemicelulose. Operando-se com a concentração inicial do inóculo no nível -1 correspondente a 5%, temperatura fixada em 34°C e espessura da camada abaixo de 4cm, obtém-se valor otimizado para o teor de matéria orgânica em torno de 88%.

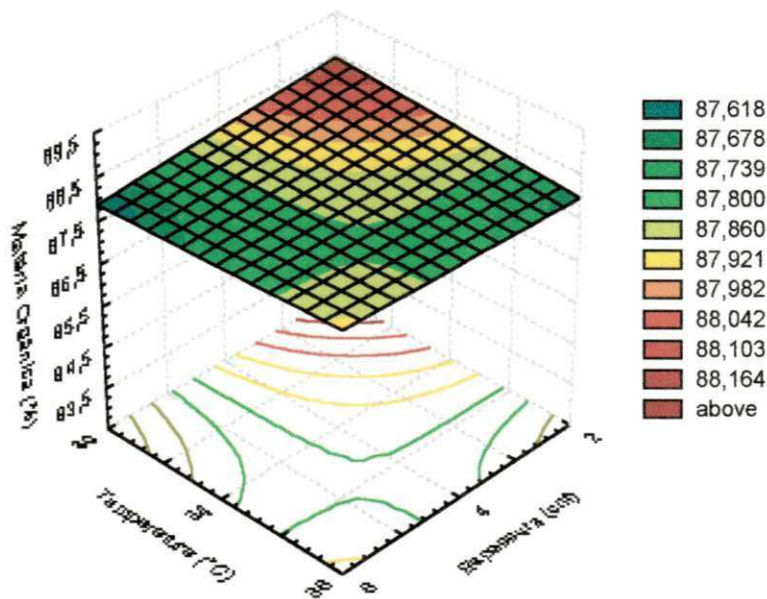


Figura 6.84 Influência da temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o teor de matéria orgânica (MO) da palma forrageira; fixando-se a concentração inicial no nível de -1 (5%).

6.3.2.11 Análise de Superfície de Resposta para a Variável Digestibilidade “in vitro” da Matéria Seca (DIVMS) da Palma Forrageira Enriquecida com Levedura

Analisando a Figura 6.85, observa-se na superfície de resposta os efeitos das variáveis independentes concentração inicial do inóculo (C) e temperatura (T) sobre a resposta coeficiente de digestibilidade “in vitro” da matéria seca da palma forrageira

enriquecida com levedura (DIVMS). Percebe-se que ao fixar a concentração inicial do inóculo acima de 10% e a temperatura acima de 34°C, obtém-se um coeficiente de digestibilidade “in vitro” da matéria seca em estudo acima de 98%.

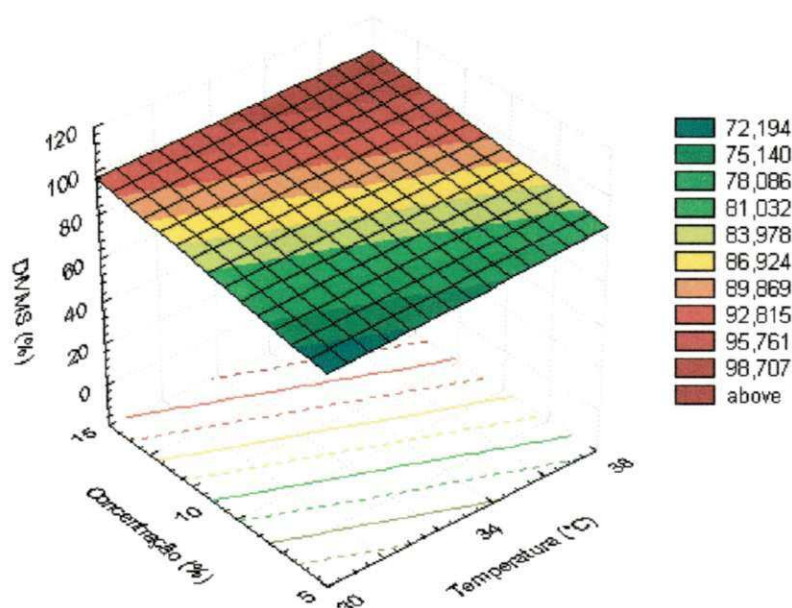
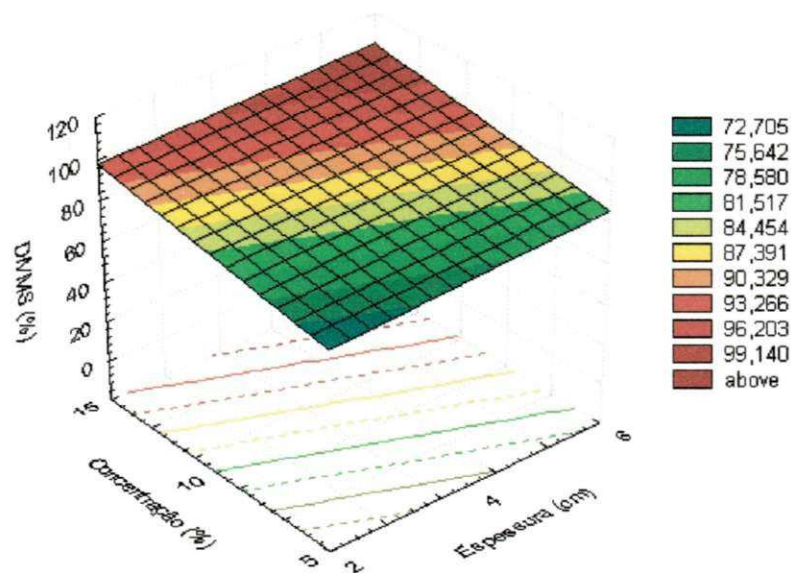


Figura 6.85 Influência da concentração do inóculo (C) e temperatura (T) sobre o coeficiente de digestibilidade “in vitro” da matéria seca, fixando-se a espessura da camada (E) no ponto central (4cm).

Através da Figura 6.86 verifica-se que as variáveis concentração inicial do inóculo (C) e espessura da camada (E) apresentaram efeitos significativos sobre a resposta coeficiente de digestibilidade “in vitro” da matéria seca da palma forrageira enriquecida com levedura. Verifica-se que quando fixa-se a concentração do inóculo acima de 10% e espessura da camada acima de 4 cm, obtém-se valor para resposta em estudo em torno de 99%.



A Figura 6.86 Influência da concentração do inóculo (C) e espessura da camada (E) sobre o coeficiente de digestibilidade “in vitro” da matéria seca da palma forrageira, fixando-se a temperatura (T) no ponto central (34°C).

A Figura 6.87 ilustra a influência das variáveis de entrada temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o coeficiente de digestibilidade “in vitro” da matéria seca da palma forrageira enriquecida com levedura. Ao fixar-se a temperatura acima de 34°C e a espessura da camada acima de 4 cm, obtém-se a resposta em estudo em torno de 93%.

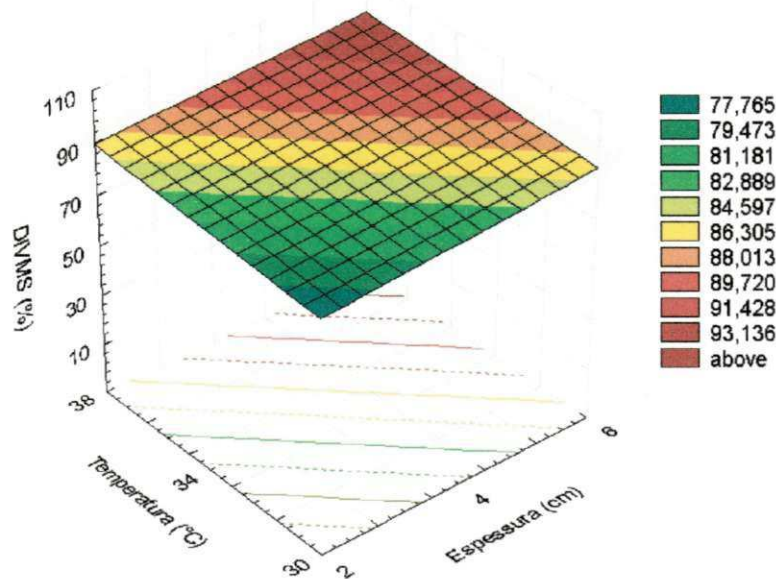


Figura 6.87 Influência da temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o coeficiente de digestibilidade “in vitro” da matéria seca da palma forrageira, fixando-se a concentração inicial do inóculo (C) no ponto central (10%).

Na Figura 6.88 verifica-se que as variáveis de entrada temperatura (T) e espessura da camada (E) apresentam poucos efeitos significativos sobre a resposta coeficiente de digestibilidade “in vitro” da matéria seca da palma forrageira enriquecida com levedura (DIVMS). Fixando-se a concentração em 15% (nível +1), temperatura qualquer e espessura abaixo de 4 cm, obtém-se a resposta em estudo em aproximadamente 98%.

A palma forrageira na forma “in natura” utilizada neste trabalho, apresentou coeficiente médio de digestibilidade “in vitro” da matéria seca (DIVMS) igual a 78,09%, valor próximo e similar ao encontrado por ARAÚJO (1994) e BARBOSA (1998) com 78,05%, porém foi superior ao verificado por SANTOS *et al.* (1990) que obtiveram coeficientes de digestibilidade “in vitro” da matéria seca de 74,11; 75,12 e 77,37%, para as culturas de palma forrageira Redonda, Gigante e Miúda, respectivamente. PERAZZO NETO (1999) com 67,21%, SEBRAE (2001) igual a 75%, ARAÚJO (2001) com 75,5%.

Após o enriquecimento protéico da palma forrageira com levedura, obteve-se coeficiente de digestibilidade “in vitro” da matéria seca em aproximadamente 98%. SANTOS *et al.* (1997), afirmam que a obtenção de grandes volumes de plantas xerófilas para experimento de digestibilidade “in vitro” e a sua baixa palatabilidade tem dificultado a avaliação do valor nutritivo das plantas nas regiões Semi-Áridas do Nordeste brasileiro, o que não acontece com a palma forrageira, uma vez que é muito bem aceita pelos animais.

Conforme pode-se observar a palma forrageira apresenta altos teores de digestibilidade “in vitro” da matéria seca com o enriquecimento protéico, o produto fermentado apresentou quase 100% de digestibilidade da matéria seca, este fato deve-se também as leveduras que apresentam alta digestibilidade de todos os seus nutrientes. Logo, os coeficientes de digestibilidade “in vitro” da matéria seca do bioproduto foram elevados significativamente com a inoculação da levedura.

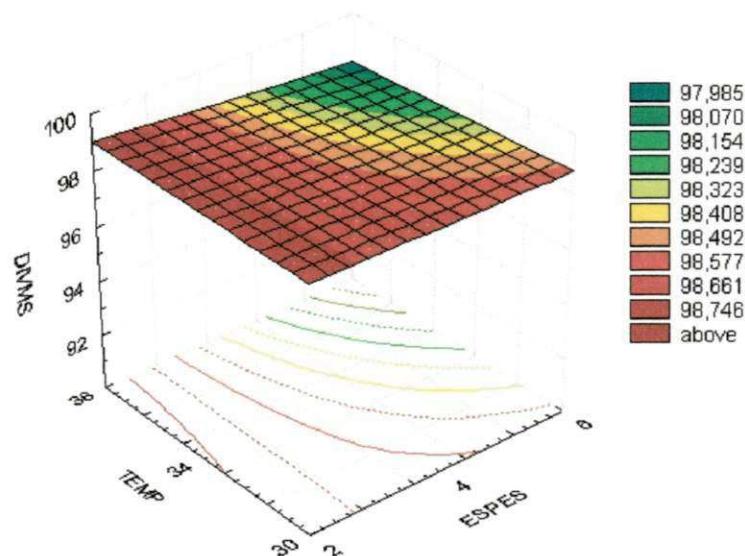


Figura 6.88 Influência da temperatura (T) e espessura da camada (E) sobre o coeficiente de digestibilidade “in vitro” da matéria seca, fixando-se a concentração inicial no nível de +1 (15%).

6.4 Considerações Gerais

6.4.1 Faixas de Valores das Variáveis que Otimizam o Enriquecimento Protéico do Mandacaru sem Espinhos e Palma Forrageira

O estudo do enriquecimento protéico teve como objetivo principal a produção de um suplemento protéico. Na busca de verificação dos efeitos das variáveis independentes: C, T e E sobre o processo, foram definidas 11 respostas.

Observou-se que há antagonismos nos efeitos de C, T e E sobre as 11 respostas estudadas. Para otimização dos processos em geral definiram-se as variáveis % PB, % APB, % PV e %APV como as variáveis respostas metas, pois a finalidade principal é a produção do concentrado protéico. Estas variáveis, como analisadas em itens anteriores, apresentam correlações.

Desta forma, a Tabela 6.5 apresenta os valores máximos das 11 respostas estudadas, operando-se com as variáveis independentes, para os processos fermentativos utilizando-se das cactáceas mandacaru sem espinhos e palma forrageira, nas seguintes faixas: **concentração inicial de inóculo (C) = 12% - 15%, temperatura de fermentação (T) = 34^o C – 38^o C e espessura da camada do biorreator (E) = 2 cm – 4cm.** Estes valores das variáveis independentes maximizam os valores de % PB, % APB, % PV e %APV, principal objetivo do trabalho.

Tabela 6.5 Valores das variáveis respostas operando o processo de enriquecimento protéico com concentração inicial do inóculo (C) = 12 -15%, temperatura (T) =34 -38^oC e espessura da camada (E) = 4 -2 cm

Cactáceas	MS (%)	PB (%)	PV (%)	APB (%)	APV (%)	FDA (%)	FDN (%)	HC (%)	MO (%)	EB (cal/g)	D (%)
mandacaru											
sem espinhos	16	29	13,9	330	275	26	55	30	88	4800	99
palma forrageira	14,5	25	11	400	300	24	46	24	87	4300	98

Analisando a Tabela 6.5, verifica-se que o percentual de proteína bruta na matéria seca (PB) para as cactáceas em estudo foi mais de 3 vezes superior ao do valor "in natura". Correlacionando PB e APB, nota-se que o aumento do processo de enriquecimento protéico utilizando-se da palma foi maior que no processo utilizando-se do mandacaru. As respostas APB e APV quantificam o aumento protéico, ou seja, estas respostas relacionam PB e PV com o aumento da concentração da matéria seca em relação às cactáceas "in natura". A relação PB e PV, nas cactáceas estudadas, são diretamente proporcionais, sendo PV, em média, igual a 50% do valor de PB. Com relação à resposta do percentual de matéria seca (MS) no enriquecido protéico, são observados os mesmos perfis da resposta do percentual de proteína bruta (PB). Estes fatos podem ter como explicações a ocorrência da reação de fermentação, sendo consumido parte dos carboidratos e conseqüentemente, o percentual de proteína bruta (PB) aumenta em relação ao substrato na forma "in natura". Com relação à percentagem de proteína verdadeira (PV), deve ter ocorrido também a bioconversão do nitrogênio inorgânico e orgânico em proteínas microbianas. Assim, o aumento se refere ao incremento no percentual do substrato enriquecido em relação ao substrato na forma "in natura".

Sabe-se que a levedura metaboliza os carboidratos (monossacarídeos) para o seu crescimento. As fontes de carbono utilizadas pela levedura, para obtenção de energia para o seu crescimento, são os monossacarídeos, principalmente a glicose. Tendo-se a finalidade de apresentar a comprovação da certeza do crescimento do microrganismo no processo fermentativo, as Tabelas 6.6 e 6.7 apresentam a simulação dos cálculos da produção de uma suplementação protéica, considerando apenas uma mistura, ou seja, não considerando reação bioquímica.

Observa-se, na Tabela 6.6, que o mandacaru sem espinhos na forma "in natura" apresenta percentual de PB correspondente a 9,17% (Tabela 6.1). No instante que há a inoculação da levedura no substrato, calculando a média ponderada, encontra-se o valor de proteína bruta igual a 13,84%. Supondo que fosse utilizada apenas a mistura de substrato e de levedura (15%), para alcançar um percentual de PB equivalente a 26,6, seria necessário adicionar aos 1000 g de substrato, 947,3 g de levedura.

Tabela 6.6 Suposição de uma mistura (mandacaru sem espinhos + levedura) para o percentual de proteína bruta (%PB)

	Substrato (g)	Levedura (g)	% PB
"in natura"	1000	-	9,17
Mistura: substrato + inóculo	1000	150	13,84
Final da fermentação (48 horas)	1000	947,3	26,60

Tabela 6.7 Suposição de uma mistura (mandacaru sem espinhos + levedura) para o percentual de matéria seca (%MS)

	Substrato (g)	Levedura (g)	% MS
"in natura"	1000	-	10,85
Mistura: substrato + inóculo	1000	150	12,04
Final da fermentação (48 horas)	1000	1113,2	15,67

A Tabela 6.7 apresenta a simulação dos cálculos da produção de uma suplementação protéica, considerando apenas uma mistura, ou seja, não considerando reação bioquímica. Nestes cálculos foi usado o percentual de (% MS).

Verifica-se, na Tabela 6.7, que o mandacaru "in natura" apresenta percentual de matéria seca (%MS) de 10,85 (Tabela 6.1). No início do processo que há a inoculação da levedura no substrato, calculando a média ponderada, encontra-se o valor de 12,04 de % MS, considerando que não houve tempo de fermentação. Supondo, da mesma forma que foi feito para o percentual de PB, que fosse utilizado apenas a mistura de substrato e de levedura (15%), para alcançar um percentual de (% MS) de 15,67, seria necessário adicionar aos 1000 g de substrato, 1113,2 g de levedura.

Claro que a simulação feita, considera apenas uma mistura, pois no processo fermentativo, o crescimento do microrganismo, geralmente, não produz acréscimo de massa, em função da utilização da fonte de carbono (carboidrato) pela levedura para o seu metabolismo.

Da mesma forma, foram feitos estes cálculos para o estudo com a palma forrageira, apresentando valores similares aos do mandacaru sem espinhos (Tabelas

6.8 e 6.9). É bom frisar que quando da inoculação da levedura no substrato da palma forrageira, foi verificada uma elevação de volume da massa (ver Figuras 3.4 e 3.5), idêntico ao verificado na fermentação da massa de um bolo. Isto pode ser explicado pela metabolização inicial dos carboidratos monossacarídeos pela levedura que produz $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$. A palma forrageira, após enriquecimento protéico, apresentou cor esverdeada compatível com a cor de um feno de boa qualidade. Entretanto o mandacaru sem espinhos enriquecido proteicamente apresentou escurecimento ao longo do processo fermentativo (Figuras 3.4 e 3.5). Este escurecimento pode ser devido à reação de Maillard, degradação de Strecker ou caramelização. O escurecimento por caramelização é improvável, pois é resultado do aquecimento direto de carboidratos, particularmente açúcares e xaropes de açúcares. A reação de Maillard e degradação de Strecker podem explicar o fenômeno de escurecimento, pois há intervenção de aminas ou de proteínas com carboidratos, sendo as principais condições as concentrações de proteínas, açúcares redutores (monossacarídeos) e umidade, substâncias bastante encontradas no mandacaru sem espinhos. O fenômeno de escurecimento do fermentado da cactácea mandacaru sem espinhos deve ser investigado melhor em trabalhos futuros, pois este escurecimento pode ser desejável ou indesejável, em função da influência sobre os nutrientes do alimento (NUNES e BAPTISTA, 2001).

O crescimento do microrganismo utilizado (*Saccharomyces cerevisiae*) nos substratos em estudo, explica-se pelo diagrama da Figura 6.89, que mostra que os nutrientes do substrato estão disponíveis na forma de uma imensa variedade de moléculas que podem ser combinados para a formação de outras moléculas celulares, catalisando o crescimento celular.

Tabela 6.8 Suposição de uma mistura (palma forrageira + levedura) para o percentual de proteína bruta (%PB)

	Substrato (g)	Levedura (g)	% PB
"in natura"	1000	-	7,93
Mistura: substrato + inóculo	1000	150	12,77
Final da fermentação (48 horas)	1000	843,4	24,89

Tabela 6.9 Suposição de uma mistura (palma forrageira + levedura) para o percentual de matéria seca (%MS)

	Substrato (g)	Levedura (g)	% MS
"in natura"	1000	-	9,3
Mistura: substrato + inóculo	1000	150	10,7
Final da fermentação (48 horas)	1000	910,7	14,4

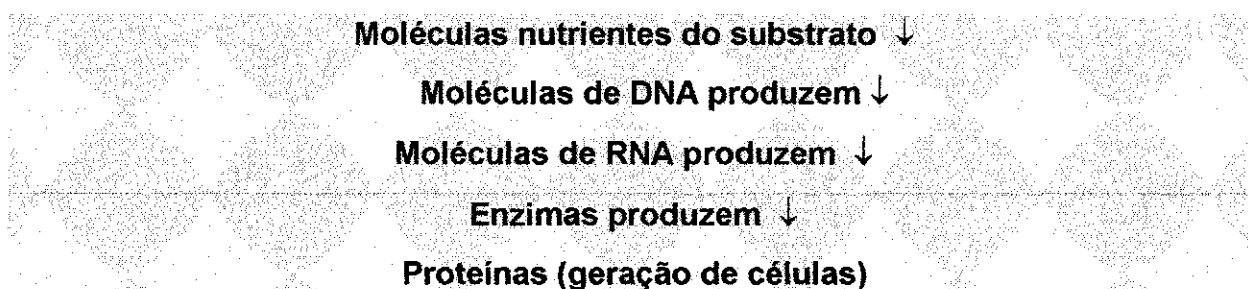


Figura 6.89 Diagrama de crescimento e função da célula (Adaptado de WYNN e WIGGINS, 2002)

Os aumentos dos teores de proteína bruta e proteína verdadeira das cactáceas em estudo, após o enriquecimento protéico, apresentaram ótimos resultados em relação aos valores destes nutrientes na forma "in natura". Este fato deve-se ao complexo de substâncias, entre outros fatores, que constituem a levedura, que cresceu nos substratos em estudo. Mesmo não se utilizando adição de uma fonte de nitrogênio, a levedura encontrou os nutrientes adequados, nas cactáceas em estudo, para o seu desenvolvimento (metabolismo). Pelo exposto, pode-se supor que os substratos mandacaru sem espinhos e palma forrageira fornecem nutrientes e a operação dos processos de fermentação condições favoráveis para a multiplicação das células da levedura, conseqüentemente aumentando os teores de proteína bruta e verdadeira, ou seja, os elevados aumentos protéicos do mandacaru sem espinhos e da palma forrageira atendem ao objetivo do trabalho, pois produzem uma suplementação protéica que pode substituir os concentrados utilizados convencionalmente na ração animal. Comparando os percentuais de PB encontrados, neste trabalho, com os teores protéicos recomendados pela National Research Council – NRC (1989), observa-se que as cactáceas enriquecidas proteicamente alcançaram teores protéicos iguais e superiores aos dos concentrados de aveia esmagada (14,7%), farelo grosso de trigo

(15,0%), torta de babaçu (20,5%), coco da Bahia prensado (21,2%), semente de algodão (23,1%), grãos de ervilha (23,4%), farelo de babaçu (24%) e farelo de aveia (25,8%).

Segundo MAUGERI FILHO (2001), a *Saccharomyces cerevisiae* apresenta na sua parede celular principalmente polímeros de glicose, sendo as glucanas o material da parede celular composta primariamente por glicose, contendo também manose. As glucanas, também, são ótimas fontes de fibras. De acordo com LIMA e SATO (2001), as leveduras são microrganismos ricos em proteínas, carboidratos, gorduras, sais minerais e contém vitaminas, principalmente, do complexo B. Os carboidratos constituintes da levedura representam de 15 a 60% da matéria seca, sendo composta de trealose (33%), glucanas (27%), mananas (21%) e glicogênio (12%). A manutenção e incremento dos enriquecidos em relação à energia bruta (EB), deve-se ao fato da levedura mesmo tendo metabolizado os carboidratos fermentescíveis dos substratos para o seu crescimento, apresentar em sua composição da parede celular alto percentual de carboidratos, que incrementa a energia bruta nos suplementos protéicos produzidos.

Com relação a FDA e FDN e Hemicelulose, observa-se boa correlação. A partir da análise de percentagem de FDN no substrato enriquecido, determina-se o conteúdo da parede celular que apresenta a composição de fibras (os insolúveis), como celulose, hemicelulose, lignina e proteína lignificada, enquanto proteínas, gorduras, carboidratos solúveis e pectina formam a composição solúvel da parede celular. No caso de FDA, determina-se a fibra tipo lignina, proteína lignificada e celulose (lignocelulose). A hemicelulose é a diferença de FDA e FDN, pois a diferença de composição principal deles é a hemicelulose que está no insolúvel (fibra) de FDN. Observa-se que os carboidratos solúveis são mais digeríveis que hemicelulose, celulose e lignina, ou seja, carboidratos > hemicelulose > celulose e lignina. Além do tamanho de partícula da forragem, o conteúdo de fibra da dieta é importante para o fornecimento de quantidades adequadas de carboidratos complexos, objetivando melhorar a digestibilidade e controlar a acidez no rúmen. A FDN e FDA são as mais empregadas para a formulação de rações para ruminantes (SILVA, 1998) A levedura apresenta baixa concentração de fibras, sendo corroborado com os dados depois de enriquecido, pois verificou-se que aumentando-se a concentração inicial de inóculo (C) no substrato ocorre uma redução de FDN, FDA e conseqüentemente hemicelulose. Os aumentos

verificados dos enriquecidos em relação aos "in natura" de FDA, FDN e hemicelulose são devidos ao percentual de concentração destas variáveis aumentarem no produto fermentado, em função do consumo de carboidratos solúveis serem bioconvertidos pela levedura para a síntese protéica e os carboidratos insolúveis (celulose, hemicelulose, lignina) não serem metabolizados pelo microrganismo, fazendo com que o percentual de carboidratos insolúveis sejam, praticamente, o total de carboidratos presentes na amostra enriquecida em função da redução dos carboidratos solúveis.

PERAZZO NETO (1999) estudando o enriquecimento protéico da algaroba, utilizando o fungo observou que houve diminuição de FDA, FDN no enriquecido em relação ao "in natura". Estes dados são bem coerentes com os observados neste trabalho, pois o fungo *A. niger* metaboliza os carboidratos celulósicos, desta forma reduzindo os valores de FDA e FDN no processado. Mesmo operando com os valores das variáveis C, T e E otimizadas para a maximização de aumento protéico, e sendo FDA, FDN e hemicelulose influenciadas negativamente com o aumento da concentração inicial de inoculo (C), verifica-se que os seus valores estão compatíveis e maiores que os recomendados pela NRC (1989), nas cactáceas em estudo, para uso na alimentação de animais na manutenção e vaca em lactação. Fornecendo suporte para um balanceamento da dieta dos animais quando associada a alimentos volumosos.

Relacionando o estudo dos levantamentos das isotermas (capítulo 4) nas temperaturas próximas às estudadas nos processos de enriquecimento protéico, verifica-se que as cactáceas mandacaru sem espinhos e palma forrageira apresentam umidade em torno de 90%. Esta umidade em base úmida está relacionada à fração de umidade em base seca (X_{bs}) aproximadamente de 9,0, que corresponde a a_w maior que 0,9. Isto explica a facilidade do crescimento da levedura, pois encontrou condição adequada de a_w para seu metabolismo, que é a_w ótima em torno de 0,9.

Não foi verificada contaminação ao longo do processo fermentativo, provavelmente devido ao emprego de elevada concentração do inóculo (5 a 15%), evitando outros microrganismos em função da competição.

Com relação ao estudo de armazenamento do produto enriquecido, é importante em trabalhos futuros estudar a secagem, tentando reduzir a atividade de água (a_w) do produto final para valores abaixo de 0,35, facilitando desta forma a conservação do produto sem necessidade de refrigeração e aditivos (SANTIN, 1996). Para alcançar valores de a_w abaixo de 0,35 é preciso controlar o produto enriquecido com X_{bs} médio

abaixo de 0,2 para as três temperaturas dos processos. O valor de a_w de aproximadamente 0,2 corresponde a fração de umidade em base úmida (Xbu) de aproximadamente 0,15, ou 15% de umidade residual do enriquecido.

MATOS *et al.* (1996) observaram que a *S. cerevisiae* utilizada na alimentação animal apresentam alta digestibilidade de todos os seus nutrientes e em particular de fração nitrogenada, chegando a valores de DIVMS igual aos índices da caseína.

BUTOLO (1996) estudando o uso de biomassa de levedura em alimentação animal, conclui que os bons resultados obtidos com vacas em lactação, mostram que a adição de levedura na ração está associada com o aumento da eficiência digestiva do animal, tendo como consequência maior percentagem de proteína e gordura no leite e aumento de sua produção.

6.5 Conclusões

- Todas as 11 variáveis de saída (respostas), para o estudo com as duas cactáceas, apresentaram modelos empíricos da regressão linear com significância estatística, sendo que em sua maioria, além de serem estatisticamente significativas foram altamente preditivos;

- Das três variáveis de entrada estudadas (concentração inicial do inóculo, temperatura e espessura da camada) para verificação dos efeitos sobre o processo de enriquecimento protéico, a concentração inicial de levedura (C) foi a que teve, em todos os estudos, a maior influência;

- Para otimização dos processos em estudo, ou seja, maior percentagem de PB e PV com valores de mais de 3 vezes superior ao substrato "in natura" e aumentos protéicos (APB) e (APV) acima de 300%, deve-se operar os processos com as variáveis independentes, nas seguintes faixas: concentração inicial de inóculo (C) = 12% - 15%, temperatura de fermentação (T) = 34^o C – 38^o C e espessura da camada do biorreator (E) = 2 cm – 4 cm;

- O suplemento protéico da palma forrageira e do mandacaru sem espinho, obtidos neste trabalho, constituem em um alimento alternativo aos grãos de cereais, que são bastante utilizados na criação de animais (os suplementos ditos convencionais). Essa afirmação é baseada nos resultados obtidos pelos estudos realizados.

- O enriquecimento protéico do mandacaru sem espinhos e da palma forrageira pode ser utilizado para minimizar o estresse nutricional dos animais durante a época de estiagem na região Semi-Árida e reduzir os custos com suplemento protéico convencional.

Capítulo 7

Conclusões Gerais

O presente trabalho alcançou seu objetivo tornando as cactáceas mandacaru sem espinhos e a palma forrageira em suplementos protéicos, bioprodutos obtidos neste trabalho, utilizando-se da levedura como inóculo, constituindo em um alimento alternativo “não convencional” aos grãos de cereais, que são bastante utilizados na dieta de animais para manutenção e produção. Essa afirmação é decorrente dos resultados apresentados pelos estudos realizados nesse trabalho. O percentual de aumento protéico encontrado foi mais de 3 vezes superior aos substratos na forma “in natura” sem utilizar qualquer fonte adicional de nitrogênio.

Para otimização dos processos em estudo, ou seja, maior percentagem do teor de proteína bruta (PB) e proteína verdadeira (PV), com valores de mais de três vezes superior ao substrato na forma “in natura” e aumento da percentagem da proteína bruta (APB), aumento da percentagem da proteína verdadeira (APV) acima de 300%, deve-se operar os processos com as variáveis independentes, nas seguintes faixas: concentração inicial do inóculo (C) = 12 – 15%, temperatura de fermentação (T) = 34 – 38°C e espessura da camada do reator (E) = 2 – 4cm.

A digestibilidade “in vitro” aumentou nos enriquecidos mandacaru sem espinhos e palma forrageira, indicando que houve uma ótima absorção dos nutrientes nos testes realizados “in vitro” e que a energia bruta foi também aumentada, confirmando que o processo influenciou positivamente no teor energético.

Concluiu-se que houve elevada eficiência da bioconversão dos processos, transformando as cactáceas em estudo em bioprodutos de alto valor agregado similar ou maior que os concentrados convencionais, podendo ser utilizados como alternativa alimentar, tecnicamente viável e de qualidade, possibilitando a incorporação dos produtos dentro das estratégias de alimentação dos animais nos atuais sistemas de produção, na época de escassez de alimentos na região Semi-Árida do Nordeste.

Capítulo 8

Perspectivas para Trabalhos Futuros

Tendo a visão mais abrangente após a realização do trabalho, muitas perguntas ficam sem respostas, por serem feitas quando a análise geral é realizada e o trabalho já está concluído. Tendo ciência que o trabalho não esgota em si mesmo, abaixo estão relacionadas algumas sugestões para futuros estudos.

– Estudo da ampliação de escala do processo fermentativo (“scale up”) e da sua viabilidade econômica;

– Estudos cinéticos com reatores com agitação para verificação da diminuição do tempo ótimo de processo, utilizando-se da levedura;

– Utilização conjunta dos fungos *Aspergillus niger* e *Saccharomyces cerevisiae* para metabolização completa dos carboidratos, pois a levedura só metaboliza carboidratos monossacarídeos solúveis e o *Aspergillus niger* metaboliza os polissacarídeos tipo celulose;

– Estudo do enriquecimento protéico com a *Saccharomyces cerevisiae* avaliando outras variáveis de entrada, como adição de uma fonte de nitrogênio, granulometria, agitação do meio, design de reator;

– Estudo do emprego do produto com enriquecimento protéico das cactáceas mandacaru sem espinhos e palma forrageira, realizando testes com animais a fim de obter informações a respeito do desempenho no ganho de peso e produção de leite;

– Realizar estudos da degradação da proteína no rúmen dos animais alimentados com os substratos enriquecidos do mandacaru sem espinhos e palma forrageira (bioprodutos);

– Estudar a qualidade dos bioprodutos enriquecidos caracterizando as proteínas e carboidratos pelo método de CORNELL;

– Estudo de secagem e período de armazenamento dos substratos enriquecidos mandacaru sem espinhos e palma forrageira.

Capítulo 9

Bibliografia

ADISA, V.A. e FAJOLA, A.O. **Carbon nutrition of six fruit not pathogens of *Citrusrinensis***. Fitopatol. bras. v.7. n. 3, p. 359-363, 1982.

AIBA, S.; HUMPHREY, A.E.; MILLIS, N.F.; MILLIS, N.F. **Biochemical Engineering**. University of Tokyo Press, 1968. Edição em português: tradução de Júlio César Medina, 1971.

AGUIRRE, J.M. **Desidratação de Frutas e Hortaliças**. Manual Técnico, ITAL, Campinas, SP, p. 9–13, 1997.

ALBUQUERQUE, S.S.C.; LIRA, M. de A.; SANTOS, M.V. dos.; DUBEUX Júnior, J.C.B.; MELO, J.N. de. **Utilização de três fontes de nitrogênio associadas à palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) cv. Gigante na Suplementação de vacas leiteiras mantidas em pasto diferido**. R. Bras. Zootec. (Suplemento), v.31, n3, p. 1315–1324, 2002.

ALTIDES, K.I.D. **Estudos das Isotermas de Sorção da Palma (*Opuntia ficus-indica* Mill) e do mandacaru sem espinhos (*Cereus jamacaru* P.DC)**. Relatório do PIBIC; CNPq., p. 40, 2002.

ANDRADE, A.T. **Estudo da atividade de água na produção de amiloglicosidase do arroz**. Dissertação de Mestrado, UNESP. Rio Claro, São Paulo, p. 13–18, 1999.

ANGELIS, D.F. **Emprego de leveduras em culturas puras e mista objetivando o aproveitamento da vinhaça**. Brasil Açucareiro. Rio de Janeiro, 9.4 (6), p. 401–406, 1986.

A.O.A.C. **ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS** - Official methods of analysis. 15 ed. Arlington; 1990.

ARAÚJO, L.F. **Estudo da composição química bromatológica e da digestibilidade "in vitro" de alimentos utilizados pelos animais, no Cariri Oriental da Paraíba.** Areia – Universidade Federal da Paraíba, p. 66, 1994. (Dissertação de Mestrado).

ARAÚJO, L.F. **"Alimentação Animal no Semi-Árido Paraibano" (Mandacaru sem Espinhos).** Relatório do BN, p. 27, 2001

ARAÚJO, L.F.; MEDEIROS, A.N.; PERAZZO NETO, A.; CONRADO, L.S.; SILVA, F.L.H. da. **Estudo do enriquecimento protéico do mandacaru sem espinhos (*Cereus jamacaru P.DC*), utilizando levedura por fermentação semi-sólida.** In: VI Simpósio Nacional de Fermentação (CD) – Florianópolis-SC, 2003.

BARBOSA H.P. **Tabela de Composição de Alimentos do Estado da Paraíba "Setor Pecuário";** 2 ed. UFPB/ FAPEP, p. 23-188, 1998.

BARROS NETO, B; SCARMINIO, L.S.; BRUNS, R.E. **Planejamento e Otimização de Experimentos.** Campinas, SP: 2ª ed. Editora da UNICAMP, p.299, 1996.

BERTAGONOLLI, P.F.; PORTO, M.D. de M.; REIS, E.M. **Influence of culture media on the sporulation of (*Septoria glyeines Hemmi*); causal agent of soybean brown spot. Influence of culture** Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília, v. 23, n. 8, p. 869-875, ago, 1988.

BIZOT, H. **Using the G.A.B. model to construct sorption isotherms. Physical Properties of Foods,** p. 43–54, 1985.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste Especialmente do Ceará,** 2 ed., Natal. UFRN/Editora Universitária, p.540, 1960.

- BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, Especialmente do Ceará**, 3 ed., Fortaleza: Coleção Mossoroense, p.540, 1976.
- BRASIL, Ministério da Agricultura. Levantamento Exploratório: **Reconhecimento do Estado da Paraíba**. Rio de Janeiro: MA/CONTAP/USAID/BRASIL, p. 683, 1972.
- BRITES, L. M. **Recuperação da Amiloglicosidase de *Aspergillus niger* produzido em Estado Sólido utilizando Resina de Troca Iônica DE AE-Celulose**. SP. In: COBEQ. Águas, Águas de São Pedro, Anais... Meio Eletrônico, 2001.
- BRUNAUER, S.; EMMETT, P.H.; TELER, E. **Adsorption of gases in multimoleculares layers**. Journal Am. Chem. Society. v. 60, p. 309–319, 1938.
- BUDIATMAN. S.; LONSANE, B. K. **Cassava fibrous waste residue: a substitute to wheat bran in Solid state fermentation**. Biotechnology Letters. v. 9, p. 597–600, 1987.
- BUTOLO, J.E. **Uso da Biomassa de Levedura em Alimentação Animal: Propriedades, custo relativo e outras formas de nutrientes**. In: ITAL. Instituto Tecnológico de Alimentos. Produção de Biomassa de Levedura: Utilização em Alimentação Animal. Workshop. Campinas – SP, p. 70-89, 1996.
- CAMPOS, A.R.N.; DANTAS, J.P.; SILVA, F.L.H. da. **Enriquecimento protéico do Bagaço do Pedúnculo do caju (*Anarcadium occidentale*) por Fermentação Semi-sólida**. In: Simpósio Nacional de Fermentações (CD). Florianópolis, 2003.
- CARVALHO, M.A.H. **Influência do Cultivo dos fungos *Aspergillus niger* e *Fusarium oxysporum* sobre a composição química da Palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill)**, Areia – Universidade Federal da Paraíba, p. 40, 1999. (Dissertação de Mestrado).

CASTILHO, L.R. **Recuperação de Pectinases produzidas por *Aspergillus niger* em fermentação semi-sólida**. COPPER/ UFRJ, Rio de Janeiro-RJ, Brasil, p. 60, 1977. (Dissertação de Mestrado).

CATÃO, M.S. **Farinha de Mandioca (*Manihot esculenta Crantz*): Isolamento e Incidência de Fungos Contaminantes e Potencial Micotoxigênico**, João Pessoa – Universidade Federal da Paraíba, p.38, 1999. (Dissertação de Mestrado).

CONCRETES, A. **Manual de Forragicultura**, 10 ed. p. 60,1968.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1978.

CORSI, M. **Produção e qualidade de forragens tropicais**. In: Pastagens. Campinas: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p. 69–85, 1990.

CROOKE, P.S. HONG. K.; MALANEY, G.W.; TANNER, D.R. **Solid and semi-solidstate bioreactos: static, rotating and fluidized bed fermentors**. Journal of the Biomass Energy Society of China. China, v. 10, n. 12, p. 1–2, 1991.

DAUBRESSE, P.; INTIBASHIRWA, S.; GHEYSEN, A. e MEYER. **A Process for Protein Engineering of Cassava by Solid Substrate Fermentation in Rural Conditions** Biotechnology and Bioengineering, v. 29, p. 962–968, 1987.

DE COCK, G.C. **Drought resistant fodder shrub crops in South África**. In: Le Howérou, H. N. (ed) **Browse in África. The current State of Knowledge** International Kiestock Center for África. p. 491, 1980.

DEL BIANCHI, V.L.D.; MORAES, I.O.;CAPALBO, D.M.F. **Fermentação em meio semi-sólido**. In:., Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica., AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W, v. 2, p. 247-276, 2001.

DOMINGUES, O. **Origem e introdução da palma forrageira no Nordeste**. Instituto Joaquim Nabuco de Pesquisas Sociais, Recife – PE. p. 73, 1963.

DURAN, N. **Bioconversion to single cell protein: Recovery of ligocelusic materials to produce human food as na integrated process**: Alimentos v. 1, n. 4, p. 39-50, 1989.

ECHEVARRIA, J. RODRIGUES LEON, J.A., ESPINOSA, M.E. **Optimization of solid state fermentation of sugar cane by *Aspergillus niger* cousidering partides rize effect**. Acta Biotechnol, v. 11, n. 1, p. 15–22, 1991.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. "Agro-ecology, cultivation and use of cactus pear",1995. Edição em português: **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**: tradução do SEBRAE/PB, p. 216, 2001.

FARIAS, I.; FERNANDES, A. P. M.; LIMA, M. DE A. SANTOS, D.C.; FRANÇA, M.P. **Cultivo da palma forrageira em Pernambuco**. Recife: IPA (Instruções Técnicas, 21), p. 5, 1998.

FELKER, P., **Proceedings First Annual Texas Prickly Pear Council**. Texas Prickly Pear Co. Publishers, Kingsville, Texas p.95, 1990.

FELKER, P. **Proceedings Third Annual Texas Prickly Pear Council**. Texas Prickly Pear Co. Publishers, Kingsville, Texas, p. 65, 1992.

FIGUEIREDO, M. P. **Nutrição de bovinos leiteiros e reações metabólicas**. Bahia Agrícola, v. 1, n. 2, p. 51, 1996.

GERMANO, R.H.; BARBOSA, H.P.; COSTA, R.G. da; MEDEIROS, A.N. de. **Avaliação da composição química e mineral de seis cactáceas do semi-árido paraibano.** In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, João Pessoa. Anais... João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p. 719, 1991

GERVAIS, P.; MOLIN, P. **The role of water in solid-state fermentation.** Biochemical Engineering. Journal 13, p. 85–100, 2001.

GONZÁLEZ, J. B., TOMASIM, A. GONZALEZ, G.U., LOPES, J. **Penicillin production by solid state fermentation.** Biotechnol. Lett, Keue, v. 10, n.11, p. 793-798, 1988.

GONZALEZ, C.L. **Potential of fertilization to improve nutritive value of paicky pear cactus (*Opuntia linadheimeri Congelm*).** J. Arid Enviaon, p. 87–94, 1989.

GORNALL, A.G.; BORDAWILL, C.S.; DAZIO, M.M. **Determination of Protein by the Biureto restion.** Journal Doil Biologie Shein, v. 177, p. 751–780, 1949.

GOULD, G.W. **Daying, raised osmotic preisure and low water activity.** En Mechanisms of Action of Food Preservation Procedure. Ed. G. W. Gould, Elsevier Applied Science, London, p. 27, 1989.

GOUVEIA, J.P.G. de. **Avaliação da cinética de secagem do gengibre (*Zimgiber officinalle, Roscoe*) em um secador de leito fixo.** (Tese de Doutorado). Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, São Paulo, 1999.

GREGORY, R. A.; FELKER, P. **Crude protein and phosphorus content of eight constrasting *Opuntia forage* clones.** Journal of Arid Environment. Londres, v. 22, n. 4, p. 323–331, 1992.

GUTIERREZ, R.; FAVELA, M.; TORRES, E. **Curso de fermentaciones em médio sólido. Biotecnologia para el aprovechamiento de residuos agroindustriales e municipales.** Jaguariúna : EMBRAPA, p.8, 1992. (Apostila do curso).

HENNIES., P.T. **Produção de pectinase de *Penicillium italicum* através de fermentação em meio semi-sólido.** FEA/UNICAMP. Campinas, São Paulo Brasil, 1996. (Dissertação de Mestrado).

HESELTINE, C.W. **Solid state fermentation.** Biotechnol a Bioeng., v. 14, p. 79-89, 1972.

HOLANDA, J.S.; OLIVEIRA., A.J.; FERREIRA, A.C. **Enriquecimento Protéico de Pedúnculos de Caju com Emprego de Leveduras, para Alimentação Animal.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 33, n. 5, p. 787–792, 1998.

HOLFMANN, W. **Kakten als nut/plan/en unter besonderer Berücksichtigung der Gattung *Opuntia Mill.*** In: FAO. Food na Agriculture Organization of the United Nations. Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira. Edição em português: Tradução do SEBRAE, 2001.

I

ISSE, M.G.; SCHUCHMANN, H. e SCHUBERT, H. **Divided soaption isotherm concep: on alternative way to describe sorption isotherm data,** v. 16,n. 2, p. 147-157, 1993.

JARDIM, W.R. **Alimentos e alimentação do gado bovino.** São Paulo. Ed. Agronômica Ceres, p. 338, 1976.

JARDIM, W.R. **Curso de Bovinocultura,** 4ª ed, Campinas. Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, p. 525., 1995.

LIMA, V. de A.; SATO, S. **Proteínas de Origem Microbiana**. In: **Biologia Industrial Biologia na Produção de Alimentos** S. Paulo. Edgard Blucher, p. 421–425, 2001.

LODDER, J. **The Yeasts. A taxonomie study**. North Holland. Amsterdan, 1972.

LOMAURO, C.J.; BAKSHI, A.S.; LABUZA, T.P. **Evaluation of food moisture soaption isotherm equations**. *Prat I and II. Lebensm – Wirs. und Techonol*, v. 18, n. 2, p. 111–117, 1985.

LOPES, E.B. **Cochinilha-do-carmim (*Drety lopites coccus*, COSTA)**. Uma nova praga da palma forrageira do Cariri Paraibano. Relatório Técnico. Fitossanitário EMBRAPA/EMEPA-PB, p. 21, 2001.

MAGALHÃES, A.C.N. **Fotossíntese**. In: FERRJ, M.G. (Ed) **Fisiologia Vegetal**, São Paulo: EPV/EDVSP, p. 350, 1979.

MATOS, W.R.S.; D'ARCE, R.D.; MACHADO, P.F.O. **Uso de levedura da fermentação alcoólica na alimentação dos ruminantes**. In: ITAL. Instituto Tecnológico de Alimentos. **Produção de Biomassa de Levedura: Utilização em Alimentação Animal**. Workshop. Campinas – SP, p. 74–75, 1996.

MATTOS, L.M.E. **Associação da palma forrageira (*Opuntia ficus- indica* Mill) com diferentes fontes de fibra na alimentação de vacas mestiças em lactação**. Recife, PE: Universidade Federal Rural de Pernambuco, p. 52, 2000. (Dissertação de Mestrado).

MAUGERI FILHO. **Produção de Polissacarídeos**. In: **Biologia Industrial**, v. 3, **Processos Fermentativos e Enzimáticos**. Editora Edgard Blucher, SP. (Biologia, 5), p.125-154, 2001.

- MENDES, B.V. **Alternativas tecnológicas para a agropecuária do Semi-Árido**. São Paulo, Nobel, p. 91–94, 1986.
- MOURA, R.S.F. **Estudo da Cinética de Secagem do Caju (*Anacardium occidentale L.*) em secador de leito fixo**. (Dissertação de Mestrado). UFPB – Campus II, 2001.
- MURTHY, M.V.R.; KARANTH, N.G.; RAO, K. **Biochemical aspects of solid-state fermentation**. Ed. SAUL NEIDLEMAN and ALLEN, I. Advances in applied microbiology. Laskin, California, v. 38, p. 99–144, 1993.
- NARAYANA, T.; PRATHAKAR, V.; SRINIVASULU, M. RAO.; A. LAKSHMI, J.P.; ELLAIAH, P. **Otimization of processrs parameters for cephalosporin C production under solid state fermentation from *Acremonium chrysogenum***. Procers Biochemistr, p. 6, 2003.
- NASCIMENTO, H.T.S. do; NASCIMENTO, M. do S.C.B. **Tratamento de resíduos da agroindústria com uréia**. Teresina: EMPRAPA Meio-Norte, (Embrapa Meio-Norte. Boletim de Pesquisa, 20, p. 20, 1998.
- N.R.C. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. (Washington). **Nutrient requirements of beef cattle**. 6. ed. Washington: National Academy of Science, (Nutriente requirements of domestic animals, 6), v. 1, p.157, 1989.
- NOBEL, P.S. **Growth and predicted productivity of *Opuntia ficus-indica* Mill for current and elevated carbon dioxide**. Agron. J. v. 83, p.224-2302, 1991.
- NOBEL, P.S. **RemarkKable agave and cacti**. Oxford Univ. Press, New York, 1994.
- NUNES, C. S. e BAPTISTA, A. **Implicações da reação de Maillard nos alimentos e nos sistemas biológicos**. R. Portuguesa. Ciências Veterinárias. Faculdade de Medicina Veterinária. Lisboa, Portugal. p.53 - 59, 2001.

NUNES, C. S. e BAPTISTA, A. **Implicações da reação de Maillard nos alimentos e nos sistemas biológicos.** R. Portuguesa. Ciências Veterinárias. Faculdade de Medicina Veterinária. Lisboa, Portugal. p.53 - 59, 2001.

OLIVEIRA, F.R. **Alternativas de alimentação para pecuária no Semi-Árido Nordeste.** In: SIMPÓSIO NORDESTINO DE ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES, 6., 1996. Natal. Anais... Natal: SNPA, p. 127-147, 1996.

PANDEY, A.; ASHAKUMARY, L.; SELVAKUMAR, P. e VUAYLAKSHMI, K.S. **Influence of water activity on growth and activity of *Aspergillus niger* for glycomylase production solid-state fermentation.** World Journal of Microbiology e Biotechnology, v. 10, p. 485-486, 1994.

PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; LEON, J.R. **Solid-state fermentation, Biotechnology: Fundamentals and applications,** 1st ed. Ariatech Publishers. Inc., New Delhi, p. 221, 2001

PANDEY, A. **Solid-state fermentation.** Biochemical Engineering Journal. Trivandrum - Índia, p. 019-695, 2002.

PARK, K.J. e NOGUEIRA, R.I. **Modelos para ajuste de isoterma de sorção de alimentos** Revista Engenharia Rural, Piracicaba, v. 3, n. 1, p. 80-86, 1992.

PARK, S.; RAMIREZ, W.F. **Dynamics of foreign protein secretion from *Saccharomyces cerevisiae*,** Biotechnology and Bioengineering. New York, v. 33, p. 272, 1989.

PELCZAR, M.J.Jr.; CAAN, N.K. **Microbiologia: Conceitos e Aplicações.** Editora Makron Books, 2 ed. São Paulo - SP, p. 517, 1996.

PELIZER, L.H. **Desenvolvimento de um processo de Cultivo em Estado Sólido de *Spirulina Platensis***. Universidade de São Paulo Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2000, (Tese de Doutorado).

PERAZZO NETO, A. **Determinação de parâmetros para o enriquecimento protéico da palma (*Opuntia ficus - indica Mill*) e vagens de algaroba (*Prosopis juliflora*) com *Aspergillus niger***. Rio de Janeiro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 1999. (Tese de Doutorado).

PIMENTA, E. **El nopal tunero**. Univ. de Guadalajara. México, 1990.

RAIMBAULT, M. **"Culture method to study fungal growth in solid fermentation"**, European Journal Microbiology and biotechnology, v. 9, p.199–299, 1977.

REYES, F.G.R. **Polissacarídeo da Palma gigante (*Opuntia ficus – indica Mill*): propriedades e estruturas**. Campinas, Universidade Estadual de Campinas, 1978 (Tese de Doutorado).

ROCHA, A.P.T. **Estudo do Desempenho de um Leito de jorro convencional para secagem de leveduras**. Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande - PB, 2002. (Dissertação de Mestrado).

RODRIGUES, A.M. **Efeito do Cloreto de Sódio na Produção de Proteínas (*Shaccharomyces ceravisiae*) em Fermentação Semi-Sólida**. Ciência, Tecnologia, Campinas, v. 21, n. 1, p. 57–62, jan, abr, 2001.

SAMPAIO, O.B. **Paraíba tem mandacaru sem espinhos e domínio da técnica de propagação vegetativa**. Jornal Correio da Paraíba, p. 5, 18 de agosto de 2002

SANTIN, A.P. **Estudo da Secagem e da Inativação de Leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*)**. Florianópolis-SC, Universidade Federal de Santa Catarina, 1996. (Dissertação de Mestrado).

SANTOS, M.V.F. dos.; LIRA, M, de A.; FARIAS, L. **Estudo comparativo das cultivares de palma forrageira gigante, redonda (*Opuntia ficus – indica* Mill) e miúda (*Nopolea cochenillifera*) na produção de leite**. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 19, n. 6, p. 504-511, nov/dez, 1990.

SANTOS, D.C.; MARTINS, E.S.; FARIAS, I; SANTOS, M.V.F.; LIRA, M.A. e DIAS, F.M. **Desempenho de vacas 5/8 Holmdo-Zebu alimentadas com três cultivares da palma forrageira (*Opuntia* e *Nopolea*)**. In: SIMPÓSIO NORDESTINO DE ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES, 4. 1992. Recife. Anais do IV Simpósio Nordeste de Alimentação de Ruminantes, Recife, p. 226, 1992.

SANTOS, M.V.E. dos., LIRA. M. de A.; FARIAS, I.; BURITY, H.A.; TAVARES FILHO, J.J. **Efeito do armazenamento pós-colheita sobre o teor de matéria seca e composição química das palmas forrageiras**. Pesq. Agrop. Bras. Brasília, v. 27, n. 6, p. 777–783. Jun. 1992.

SANTOS, D.C.; FARIAS, I.; LIRA, M. A. et al. **A palma forrageira (*Opuntia ficus – indica* Mill e *Nopalea cocheinillifera*, *Salm Dyck*) em Pernambuco : Cultivo e Utilização**. Recife:IPA, (IPA. Documentos, 25), p.23, 1997.

SANTOS, D.C.; SANTOS, M.V.F.; FARIAS, L. **Adensamento e freqüências de cortes em cultivares de palma forrageira (*Opuntia* e *Nopolea*)**. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, v. 35, 1998. Anais... Botucatu: SBZ, p. 512–514, 1998

SCHEINVAR, L. **Características morfológicas de la *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., usos actuaes y potencial econômico**. Resúmenes y Memórias II Congresso Internacional de Tuna y Cochinilla. Fac, Cienc. Agrar. y Forest. Univ. Chile, 1992.

SCRIBAN, R. e DUBUIS, T. **Biotecnologia**, São Paulo: Editora Manole LTDA, p.12-27, 1982.

SILVA, J.D. **Análise de Alimentos (métodos químicos e biológicos)**. Editora UFV. São Paulo, 1998.

SILVA, P.H.F. da. **Aspectos Bioquímicos e Tecnológicos da Água como constituinte dos Produtos Lácteos**. EPAMIG/CT/ILCT. Lavras – MG, 2003.

SLATER, A.L., EASTRIDGE, M.L. FIRKINS, J.L..**Effectes of starch source and leved of forage neutral detergent fiber on performance by dairy esws**. Journal of Dray Science, v. 83, n. 2, p. 313–321, 2000.

SMITH, J.E.; BERRY. D.R. **The Filamentous Fungi**. In: Biotecnogia, SCRIBAN, São Paulo: Editora Manole LDTA, 1982.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. **A net carbohydrate and protein system for evaluating eattle diets: II. Carbohydrate and protein availability**. Journal of Animal Science, v. 70, p. 3562–3577, 1992.

SPOONER, J.; DALEY, L.; WARE, G.; VINES, M. **Determination of irrigation and fertilizar practices for jode plant (*Crassula argendea (L) Thunb*)**. Journal of the American Society Horticultural Science, Mount Vernon, v.103, n.3, p. 306–308, 1978.

TABOSA, J. V. **PESQUISA ELEVA TEOR PROTÉICO DA PALMA FORRAGEIRA**. http://www.biodecorte.com.br/scripts/noticias_detail.asp?CodNoticias=117 Data da publicação: 01/03/2004

TEIXEIRA, J.C.; EVANGELISTA, A.R.; PERZ, J.R.O.; TRINDADE, I.A.; MORON, I.R. **Cinética da digestão ruminal da palma forrageira**. Ciênc. e Agrote, v. 23, n. 1, p. 179-18, 1999.

TELES, F.F.F. **The Nutrient Analysis of Paickly Pear**. In: Análises de Alimentos (Métodos Químicos e Biológicos). SILVA. 2 ed. – Viçosa. UFV, p. 165, 1998.

TRINDADE, V.; DANIEL, M.R.A. ; LEITE, S.G.F. **“Emprego de diferentes substratos para a produção de pectinase em meio semi-sólido”**. In: Anais do V Seminário sobre Hidrólise Enzimática de Biomassas. Maringá/PR, dezembro, 1996.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J. B. LEWIS. B. A. **Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition**. Journal of Dairy Science, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

VIANA, S.P.O. **O emprego da palma na alimentação de bovinos**. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE PASTAGENS, v. 9, São Paulo, 1965.

VIANA, O.I., **Pastagens de cactáceas nas condições do Nordeste**. Zootecnia, Nova Odessa, v. 7, n. 2, p. 55-56, 1969.

VILAS BÔAS, S. G.; ESPOSITO, E. **Bioconversão do bagaço de maçã; Enriquecimento nutricional utilizando fungos para produção de um alimento alternativo de alto valor agregado**. Revista de Biotecnologia, v. 3, n. 14, p. 38-42, 2001.

WANDERLEY, W. L.; FERREIRA, M. de A.; ANDRADE, D.K.B. de.; VÉRAS, A.S.C.; FARIAS, I.; LIMA, L.E. de.; DIAS, A.M. de. A. **Palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) em substituição à silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) na alimentação de vacas leiteiras**. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, MG, v. 31, n. 1, jan/fev. 2002.

WYNN, C.M. e WIGGINS, A.W. **Cinco Maiores Idéias da Ciência**: tradução de Roger Manole. São Paulo. Ediouro, p. 112, 2002.

YANG, S.S. **Antibiotics production of cellulose wastes with solid state fermentation by Streptomyces**. *Renew Energy*, p. 876–979, 1989.

YANG, S.S. **Protein enrichment of sweet potato residue with amylolytic yeasts by solid-state fermentation**. *Biotechnology Bioengineering*. v. 32, p. 889–890, 1998.

ANEXO

ANEXO

Tabela I. 1 Dados experimentais das isotermas de sorção nas temperaturas de 30°C, 35°C e 40°C para o mandacaru sem espinhos

Xbs (30°C)*	Aw (30°C)*	Xbs (35°C)*	Aw (35°C)*	Xbs (40°C)	Aw (40°C)
0,615	0,826	0,887	0,891	1,290	0,952
0,269	0,816	0,799	0,862	0,605	0,947
0,085	0,514	0,445	0,835	0,343	0,868
0,087	0,492	0,037	0,818	0,211	0,836
0,021	0,109	0,172	0,601	0,071	0,629
0,025	0,093	0,143	0,547	0,109	0,584
0,014	0,065	0,091	0,086	0,067	0,302
0,009	0,061	0,067	0,076	0,092	0,226
0,006	0,055	0,066	0,073	0,064	0,217
0,006	0,06	0,07	0,4	0,091	0,194

*ALTIDES (2002)

Tabela I.2 Dados experimentais das Isotermas da sorção nas temperaturas de 30°C, 35°C e 40°C para palma forrageira

Xbs (30°C)*	Aw (30°C)*	Xbs (35°C)*	Aw (35°C)*	Xbs (40°C)	Aw (40°C)
0,511	0,828	0,658	0,837	2,369	0,952
0,270	0,702	0,628	0,794	1,598	0,934
0,192	0,672	0,241	0,376	1,383	0,916
0,146	0,593	0,201	0,794	1,053	0,872
0,088	0,286	0,107	0,736	0,695	0,726
0,103	0,262	0,137	0,679	0,578	0,501
0,079	0,196	0,067	0,447	0,509	0,333
0,057	0,166	0,061	0,393	0,379	0,281
0,053	0,152	0,045	0,188	0,331	0,255
0,068	0,134	0,045	0,187	0,310	0,229
0,048	0,128	0,034	0,153	0,263	0,216
0,068	0,113	-	0,112	0,225	0,185
0,041	0,097	-	0,12	0,221	0,128
0,054	0,086	-	-	0,167	0,091
0,037	0,083	-	-	0,100	0,072
0,051	0,082	-	-	0,083	0,061

*ALTIDES (2002)