



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DO SEMIÁRIDO  
UNIDADE ACADÊMICA DE TECNOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E  
BIOPROCESSOS**

**JOSÉ MARREIRO DE SALES NETO**

**ESTUDO DO ENRIQUECIMENTO PROTÉICO DA ALGAROBA (*Prosopis juliflora*)  
UTILIZANDO *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 VISANDO A PRODUÇÃO DE RAÇÃO  
ANIMAL**

**SUMÉ-PB**

**2014**

**JOSÉ MARREIRO DE SALES NETO**

**ESTUDO DO ENRIQUECIMENTO PROTÉICO DA ALGAROBA (*Prosopis juliflora*)  
UTILIZANDO *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 VISANDO A PRODUÇÃO DE RAÇÃO  
ANIMAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, da Universidade Federal De Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Glauciane Danusa Coelho**

**SUMÉ-PB**

**2014**

S163e Sales Neto, José Marreiro de.

Estudo de enriquecimento proteico da algaroba (*Prosopis juliflora*) utilizando *lentinus crinitus* CCIBt 2611 visando a produção de ração animal. / José Marreiro de Sales Neto. - Sumé - PB: [s.n], 2014.

60 f.

Orientadora: Professora Dra. Glauciane Danusa Coelho.

Monografia - Universidade Federal de Campina Grande; Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido; Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

1. Algaroba – enriquecimento protéico. 2. Ração animal - algaroba. 3. Biotecnologia – produção de ração. I. Título.

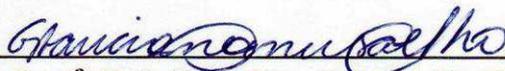
CDU: 60(043.3)

**JOSÉ MARREIRO DE SALES NETO**

**ESTUDO DO ENRIQUECIMENTO PROTÉICO DA ALGAROBA (*Prosopis juliflora*)  
UTILIZANDO *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 VISANDO A PRODUÇÃO DE RAÇÃO  
ANIMAL**

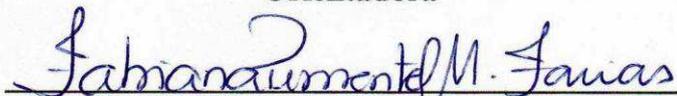
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, da Universidade Federal De Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

**BANCA EXAMINADORA**



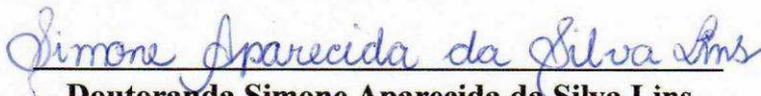
**Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Glauciane Danusa Coelho**  
UATEC/CDSA/UFCG

**Orientadora**



**Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Fabiana Pimentel Macêdo Farias**  
UATEC/CDSA/UFCG

**Examinadora 1**



**Doutoranda Simone Aparecida da Silva Lins**  
Técnica de Laboratório CDSA/UFCG

**Examinadora 2**

Aprovado em 02 de Setembro de 2014.

**SUMÉ - PB**

*Dedico este trabalho à minha família – meus  
parentes e amigos – a qual tenho imensurável  
orgulho por fazer parte.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela permissão de desenvolver este trabalho. Deus é a essência da vida, certeza do amor incondicional.

Aos meus pais, Josinaldo Manoel (*in memorian*) e Maria Rosilene, pelo maior presente que me concederam, a vida. Meus pais, independentemente do passado, o futuro será cheio de amor, carinho e respeito. Meus pais, amo vocês!

Aos meus avós maternos, José Marreiro e Severina Marinho, por terem sido meus pais e continuarem presentes em minha vida. Agradeço todos os dias por ter avós especiais ao meu lado, agradeço a Deus pela educação que me proporcionaram, que levarei comigo por toda a minha vida. Meus avós maternos, vocês são os melhores pais que alguém poderia ter. Meus avós maternos, amo vocês!

Aos meus avós paternos, Manoel Sabino e Maria do Carmo (*in memorian*), pelo carinho. Meus avós paternos, obrigado pelo amor que recebi e que recebo quando estou ao lado de vocês. Meus avós paternos, amo vocês!

Às minhas tias maternas, Maria Cleide, Maria das Dores, Maria do Socorro e Vera Lúcia, pela atenção, carinho, amor, confiança e apoio que recebi desde que nasci. Minhas tias maternas, amo vocês!

Às minhas tias paternas, Adeilda Manoel, Edvânia Manoel e Josineide Farias, e aos meus tios paternos, Adeildo Manoel e Gerson Manoel, pela atenção, carinho, amor, confiança e apoio. Minhas tias paternas, amo vocês!

Ao meu irmão, Gabriel Sales, pelo afeto que recebi quando chegava da universidade, sorrisos e alegria. Meu irmão, amo você!

Aos meus padrinhos, Maria de Lourdes e Antônio Luiz, pelos conselhos, incentivo e apoio. Meus padrinhos, amo vocês!

A Renally Barbosa pelo companheirismo durante 5 anos de convivência, conversas, conselhos e risadas. Agradeço a Deus por ter conhecido você, um exemplo de ser humano e que se tornou uma irmã para mim. Renally, amo você!

À Josefa Domicia pelo amor, conselhos e apoio. Tenho orgulho de você, pessoa determinada. Josefa, amo você!

Aos meus novos amigos, Maria Bernadete e José Carlos, pelo apoio, ensinamentos, carinho e confiança. Agradeço a Deus ter conhecido vocês. Muito obrigado!

Aos meus amigos pelo companheirismo e convivência. Agradeço a Deus por ter conhecido e convivido com todos vocês. Muito obrigado!

À Dr<sup>a</sup> Glauciane Danusa Coelho pela orientação, conselhos e confiança. Muito obrigado!

Aos componentes da banca examinadora, Fabiana Pimentel e Simone Aparecida, pela contribuição a este trabalho. Muito obrigado!

Ao Programa de Graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos da Universidade Federal de Campina Grande, em especial a coordenadora Fabiana Pimentel. Muito obrigado!

Aos professores do Programa de Graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos da Universidade Federal de Campina Grande. Muito obrigado!

Ao Instituto de Botânica de São Paulo por ceder o *Lentinus crinitus* CCIBt 2611. Muito obrigado!

À Zé Tião e à Danilo pelo auxílio na utilização da máquina forrageira. Muito obrigado!

Aos técnicos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido da Universidade Federal de Campina Grande, em especial a Adriano Marques, Ana Paloma e Norma Maria. Muito obrigado!

À Simone Aparecida pelos ensinamentos durante o desenvolvimento do Projeto de Iniciação Científica e durante o desenvolvimento deste trabalho. Muito obrigado!

Ao Professor Jean Queiroz pelo companheirismo, risadas e auxílio no laboratório. Muito obrigado!

Aos companheiros do Projeto de Iniciação Científica, Bruna Riviane e Jucilene Pereira, pelo trabalho que desenvolvemos juntos, companheirismo e companhia. Amo vocês!

Aos companheiros de laboratório, Amanda Chirley e Ana Carla, pela ajuda no desenvolvimento deste trabalho, companhia e carinho. Agradeço a Deus pela permissão de conhecer pessoas especiais como vocês. Muito obrigado!

Ao G11, Bruna Riviane, Dayse Pereira, Felipe Douglas, Jucilene Pereira, Leandro Costa, Mila castro, Raíssa Mayane, Rayza Morgana, Renally Barbosa e Rhyanne Freitas, pelo companheirismo e amizade. Agradeço a Deus pela amizade construída durante 5 anos de convivência. Amo vocês!

Aos amigos do curso de graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos e demais cursos do CDSA pela amizade. Muito obrigado!

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo estudar o enriquecimento protéico da algaroba (*Prosopis juliflora*) utilizando *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 visando a produção de ração animal. Para o estudo desse processo, o efeito da temperatura (28, 34 e 40 °C), da suplementação com farinha de soja comercial (0, 5 e 10 %) e do tempo de fermentação (0, 7 e 14 dias) foram avaliados utilizando um planejamento fatorial  $2^k$  ( $k = 3$ ) em duplicata com quadruplicada no ponto central, considerando significativos  $p < 0,05$ . A fermentação foi conduzida em potes fechados contendo 30 g do substrato suplementado com a farinha de soja comercial nas proporções estabelecidas no planejamento fatorial, 75 mL de água destilada e inóculo. A temperatura e o tempo de fermentação não apresentaram influência no teor protéico do fermentado. As melhores respostas para o teor protéico do fermentado foram obtidas nos ensaios 3 e 11, com 13,32 % e 12,84 % de proteína, respectivamente. A melhor condição do enriquecimento protéico da algaroba (*Prosopis juliflora*) utilizando *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 foi com 10 % de suplementação com farinha de soja comercial. O modelo estatístico gerado a partir do planejamento fatorial foi estatisticamente significativo e estatisticamente preditivo, com  $R^2 = 0,9290$  e erro puro = 0,8106.

Palavras-Chave: Desenvolvimento sustentável. Farinha de soja comercial. Nutrição animal. Planejamento fatorial. Semiárido Brasileiro.

## ABSTRACT

A factorial design was employed to study effect of temperature (28, 34, and 40 °C), supplementation with commercial soybean flour (0, 5, and 10 %) and fermentation time (0, 7, and 14 days) on the protein enrichment of mesquite (*Prosopis juliflora*) by *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 to make an animal feed. The experiment included a  $2^k$  ( $k = 3$ ) central composite design and it was considered significant  $p < 0.05$ , which included 16 factorial points and 4 central points. The fermentation was carried out in closed pots containing 30 g of substrate supplemented with commercial soybean flour at the proportions set out on the experimental design, 75 ml of distilled water, and inoculum. The temperature and fermentation time do not showed influence on the protein content of the fermented. The assays 3 and 11, with 13.32% and 12.84% of contribution on the protein content of the fermented, respectively, showed the best results. The supplementation with commercial soybean flour at 10 % was the best condition of protein enrichment of mesquite (*Prosopis juliflora*) by *Lentinus crinitus* CCIBt 2611. The experimental data were fitted to the obtained model and this model was statistically significant and statistically predictive, with  $R^2 = 0.9290$  and pure error = 0.8106.

Key words: Animal Nutrition. Brazilian semiarid. Commercial soybean flour. Factorial design. Sustainable development.

## LISTA DE FOTOGRAFIAS

Fotografia 1 – Local no qual os frutos maduros da algarobeira foram coletados, (a) vista da cobertura vegetal do solo e raízes das algarobeiras e (b) vista da copa das algarobeiras.....	31
Fotografia 2 – Farinha de soja comercial .....	31
Fotografia 3 – Frutos maduros da algarobeira moídos e secos.....	32
Fotografia 4 – Tubos de ensaio contendo 1 mL de água destilada (branco) e amostras dos ensaios experimentais 1, 2, 3, 4, 9, 10, 11 e 12 acrescidos de 4 mL da solução reagente Biureto .....	34
Fotografia 5 – Tubos de ensaio contendo 0,5 mL de água destilada (branco) e amostras dos ensaios experimentais 1, 2, 3, 4, 9, 10, 11 e 12 acrescidos de 0,5 mL da solução reagente DNS e 5 mL de água destilada .....	36
Fotografia 6 – <i>Lentinus crinitus</i> CCIBt 2611 após 12 dias de cultivo à temperatura de 28 °C em meio de cultura MEA.....	37
Fotografia 7 – Pote, após esterilização, contendo 30 g do substrato suplementado com farinha de soja comercial e 75 mL de água destilada .....	38
Fotografia 8 – Processo fermentativo sendo conduzido em biochemical oxygen demand (BOD).....	38
Fotografia 9 – Vista superior dos ensaios experimentais do processo fermentativo, (a) ensaio 5, (b) ensaio 6 e (c) ensaio 7.....	44
Fotografia 10 – Ensaio 5 do planejamento fatorial da fermentação dos frutos da <i>Prosopis juliflora</i> por <i>Lentinus crinitus</i> CCIBt 2611, (a) vista superior e (b) vista lateral .....	46

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Curva padrão para proteínas construída com a solução reagente Biureto e soro albumina bovina diluída em salina (0,9 %) .....	34
Gráfico 2 – Curva padrão para açúcares redutores construída com a solução reagente DNS e glicose diluída em água destilada .....	35
Gráfico 3 – Pareto da estimativa dos efeitos para a variável dependente P (%) do planejamento fatorial da fermentação dos frutos da <i>Prosopis juliflora</i> por <i>Lentinus crinitus</i> CCIBt 2611 .....	44
Gráfico 4 – Superfície de resposta das variáveis independentes tempo de fermentação e suplementação com farinha de soja comercial .....	45
Gráfico 5 – Predição dos valores previstos versus valores observados para a variável dependente P (%) do planejamento fatorial do processo fermentativo .....	48

## **LISTA DE MAPA**

Mapa 1 – Mapa do município de Serra Branca, Paraíba, Brasil.....	30
--	----

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição do meio de cultura Extrato de Malte Ágar .....	37
Tabela 2 – Variáveis independentes com diferentes níveis avaliados durante a fermentação e matriz dos ensaios para o planejamento fatorial $2^k$ nas unidades reais e codificadas .....	39
Tabela 3 – Planejamento fatorial $2^k$ em duplicata com quadruplicada no ponto central para a fermentação dos frutos da <i>Prosopis juliflora</i> por <i>Lentinus crinitus</i> CCIBt 2611.....	39
Tabela 4 – Resultado da caracterização do substrato .....	40
Tabela 5 – Resultado da caracterização de cada ensaio do planejamento fatorial da fermentação dos frutos da <i>Prosopis juliflora</i> por <i>Lentinus crinitus</i> CCIBt 2611.....	41
Tabela 6 – Análise de variância para a variável dependente P (%) do planejamento fatorial da fermentação dos frutos da <i>Prosopis juliflora</i> por <i>Lentinus crinitus</i> CCIBt 2611.....	42
Tabela 7 – Estimativa dos efeitos para a variável dependente P (%) do planejamento fatorial da fermentação dos frutos da <i>Prosopis juliflora</i> por <i>Lentinus crinitus</i> CCIBt 2611.....	43
Tabela 8 – Valores observados, previstos e residuais para a variável dependente P (%) do planejamento fatorial da fermentação dos frutos da <i>Prosopis juliflora</i> por <i>Lentinus crinitus</i> CCIBt 2611.....	47
Tabela 9 – Análise de variância (ANOVA) para a variável dependente P (%).....	48
Tabela 10 – Tempo de fermentação e umidade para cada ensaio do processo fermentativo ...	50

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\mu\text{m}$	Micrometro
A	Não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Fisher
ANOVA	Análise de variância
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
AR	Açúcares redutores
atm	Atmosfera
BOD	Biochemical oxygen demand
by	Interação
C	Celsius
CCB	Coleção de Cultura de Basidiomicetos
CCIBt	Coleção de Cultura de Basidiomicetos do Instituto de Botânica de São Paulo
CDSA	Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNS	Ácido dinitrosalicílico
DOE	Planejamento de experimentos
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EU	União Europeia
F	Valor para a distribuição F
FEFAC	European Feed Manufacturers' Federation
g	Gramas
h	Hora
Inc	Incorporated
INSA	Instituto Nacional do Semiárido
ISBN	International standard book number
ISSN	International standard serial number
k	Número de fatores
L	Linear
L	Litro
m	Metro

MEA	Extrato de Malte Ágar
mg	Miligrama
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
N	Normal
nm	Nanômetro
O&G	Óleo e Graxa
OVAT	One-Variable-At-a-Time
$p$	Índice de significância
P	Proteínas
pH	Potencial hidrogeniônico
PIB	Produto interno bruto
PVC	Policloreto de polivinila
R	Grupo lateral
RNA	Ácido ribonucleico
s	Segundo
S	Sul
SFS	Suplementação com farinha de soja comercial
T	Temperatura
$t$	Valor para a distribuição $t$
TF	Tempo de fermentação
UATEC	Unidade Acadêmica de Tecnologia do Desenvolvimento
UFMG	Universidade Federal de Campina Grande
W	Oeste

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\% U$	Porcentagem da umidade
$\%$	Porcentagem
*	Significativo considerando $p < 0,05$
**	Considerando a umidade de 12,44 %
$b_0$	Coefficiente da interceptação
$b_1$	Coefficiente da temperatura
$b_{12}$	Coefficiente da interação entre $b_1$ e $b_2$
$b_{13}$	Coefficiente da interação entre $b_1$ e $b_3$
$b_2$	Coefficiente da suplementação com farinha de soja comercial
$b_{23}$	Coefficiente da interação entre $b_2$ e $b_3$
$b_3$	Coefficiente do tempo de fermentação
$M_{AS}$	Massa da amostra seca
$M_{AU}$	Massa da amostra úmida
$C_5H_{10}O_4$	Desoxirribose
$C_5H_{10}O_5$	Ribose
$C_6H_{12}O_6$	Glicose
$-COOH$	Grupo carboxila
$C\alpha$	Carbono Alfa
$-NH_2$	Grupo amino
$-OH$	Grupo hidroxila
$R^2$	Coefficiente de determinação
$-SH$	Grupo sulfidril
$X_1$	Variável temperatura codificada
$X_2$	Variável suplementação com farinha de soja comercial codificada
$X_{23}$	Coefficiente da interação entre $X_2$ e $X_3$
$X_3$	Variável tempo de fermentação codificada
$\varepsilon$	Erro experimental

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>17</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>18</b>
3.1 PRODUÇÃO DE RAÇÃO ANIMAL.....	18
3.2 FUNGOS COMO ADITIVOS NA PRODUÇÃO DE RAÇÃO ANIMAL .....	19
3.3 NUTRIÇÃO ANIMAL.....	22
3.4 ALGAROBA E A ALIMENTAÇÃO ANIMAL .....	26
3.5 IMPORTÂNCIA DA PRODUÇÃO DE RAÇÃO ANIMAL NO SEMIÁRIDO .....	28
3.6 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL .....	29
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>30</b>
4.1 LOCAL DA REALIZAÇÃO DO TRABALHO .....	30
4.2 COLETA E PREPARO DO SUBSTRATO .....	30
4.3 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO.....	31
<b>4.3.1 Preparo das amostras.....</b>	<b>31</b>
<b>4.3.2 Determinação de umidade .....</b>	<b>32</b>
<b>4.3.3 Determinação de pH.....</b>	<b>33</b>
<b>4.3.4 Determinação de proteínas .....</b>	<b>33</b>
<b>4.3.5 Determinação de açúcares redutores.....</b>	<b>35</b>
4.4 PREPARAÇÃO DO INOCULO .....	36
4.5 FERMENTAÇÃO DA ALGAROBA .....	37
4.6 CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO DA FERMENTAÇÃO .....	38
4.7 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL .....	38
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>40</b>
5.1 CARACTERIZAÇÃO.....	40
5.2 PROCESSO FERMENTATIVO .....	41
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>51</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Diversos países por todo o mundo demandam ração animal e o volume demandado, incluindo as especificações, reflete a diversidade social e política de cada região (EUROPEAN FEED MANUFACTURERS' FEDERATION, 2013). No Nordeste Brasileiro, a variação da demanda por ração animal é dividida em dois períodos distintos, um compreende a época chuvosa e o outro a época de estiagem (CAVALCANTE; BARROS, 2005).

Para que a ração animal possua as substâncias necessárias para atender às necessidades nutricionais diárias dos animais, diferentes quantidades de diferentes ingredientes devem ser combinados de forma que o produto final apresente boa digestibilidade, menor preço possível, qualidade comprovada e textura e apresentação adequadas (BORRÀS et al., 2011). Além disso, as relações entre a qualidade da ração animal e a higiene, entre a nutrição animal e o sistema imune dos animais, as doenças infecciosas e não infecciosas e o estresse oxidativo e entre a digestão e a absorção das substâncias presentes na ração animal devem ser observadas (ADAMS, 2001).

As formulações de rações para animais podem incluir cereais, açúcares, frutas, gorduras, raízes, tubérculos, leguminosas, oleaginosas, aminoácidos e minerais (BORRÀS et al., 2011). Na produção industrial de rações baseadas em cereais, as formulações chegam a conter 40 tipos de componentes, sendo que alguns são macro nutrientes enquanto outros são micronutrientes (KIRCHNER et al., 2013). Mas, a utilização de fontes alternativas para a formulação da ração animal pode gerar rações com qualidade comparável ou até mesmo superior às com formulações triviais. Essas fontes alternativas podem incluir arbustos, sementes ou vagens ou derivados da agroindústria (VASTA et al., 2008).

O presente trabalho teve como objetivo estudar o enriquecimento protéico da algaroba (*Prosopis juliflora*) utilizando *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 visando a produção de ração animal, no qual a fermentação tem o papel de melhorar qualitativamente e quantitativamente a ração animal. O enriquecimento protéico das vagens do algaroba foi utilizado para agregar valor durante o processo produtivo, sendo uma atividade de convivência com o Semiárido Brasileiro, visando o desenvolvimento socioeconômico, que está, ainda, ligado ao desenvolvimento sustentável.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Estudar o enriquecimento protéico da algaroba (*Prosopis juliflora*) utilizando *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 visando a produção de ração animal.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Avaliar o efeito da interação da temperatura, da suplementação com farinha de soja comercial e do tempo de fermentação no enriquecimento protéico da algaroba.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 PRODUÇÃO DE RAÇÃO ANIMAL

Diversos países por todo o mundo demandam ração animal e o volume demandado, incluindo as especificações, reflete a diversidade social e política de cada região (EUROPEAN FEED MANUFACTURERS' FEDERATION, 2013). Para suprir as demandas, muitos países importam a matéria prima ou a própria ração, como a União Europeia (EU), que possui alta dependência pela importação de ração animal rica em proteínas (EUROPEAN FEED MANUFACTURERS' FEDERATION, 2013; GATEL, 1994).

No Nordeste Brasileiro, a variação da demanda por ração animal é dividida em dois períodos distintos, um compreende a época chuvosa e o outro a época de estiagem. Na época chuvosa, os produtores ofertam predominantemente aos animais as forrageiras que crescem em pastagens nativas, havendo, em termos de incremento da dieta, apenas a suplementação mineral. Na época de estiagem, o volume demandado e as especificações se modificam em relação à época chuvosa devido à escassez de forrageiras crescendo em pastagens nativas, o que leva ao aumento, nessa região do Brasil, da demanda por ração animal proveniente de outras regiões do país ou de outros países (CAVALCANTE; BARROS, 2005).

Para que a ração animal possua as substâncias necessárias para atender às necessidades nutricionais diárias dos animais, diferentes quantidades de diferentes ingredientes devem ser combinados de forma que o produto final apresente boa digestibilidade, menor preço possível, qualidade comprovada e textura e apresentação adequadas (BORRÀS et al., 2011). Além disso, as relações entre a qualidade da ração animal e a higiene, entre a nutrição animal e o sistema imune dos animais, as doenças infecciosas e não infecciosas e o estresse oxidativo e entre a digestão e a absorção das substâncias presentes na ração animal devem ser observadas (ADAMS, 2001). Ainda sobre as relações entre a qualidade da ração animal e a higiene, Wu (2004, 2007) expõe o impacto econômico que contaminações podem causar na produção de ração animal, que pode chegar à milhões de dólares por ano, com consequente diminuição do crescimento das exportações e da indústria.

As formulações de rações para animais podem incluir cereais, açúcares, frutas, gorduras, raízes, tubérculos, leguminosas, oleaginosas, aminoácidos e minerais (BORRÀS et al., 2011). Na produção industrial de rações baseadas em cereais, as formulações chegam a conter 40 tipos de componentes, sendo que alguns são macro nutrientes enquanto outros são

micronutrientes (KIRCHNER et al., 2013). Mas, a utilização de fontes alternativas para a formulação da ração animal pode gerar rações com qualidade comparável ou até mesmo superior às com formulações triviais. Essas fontes alternativas podem incluir arbustos (*Atriplex numulária*, *Acacia cyanophylla*, *Opuntia ficus-indica* etc.), sementes ou vagens (*Pisum sativum*, *Cicer arietinum*, *Vicia faba*, *Ceratonia siliqua* etc.) ou derivados da agroindústria (torta de oliva, polpa de beterraba, torta extrusada de linhaça, polpa de citros etc.) (VASTA et al., 2008).

Diversas novas formulações têm sido propostas visando melhorar qualitativamente e quantitativamente a ração animal, como Sánchez-Muros, Barroso e Manzano-Agugliaro (2013) que apontaram a utilização de insetos como fonte de proteína em formulações de ração animal, mostrando que os insetos podem ser uma fonte viável de proteínas, ou visando o aproveitamento de rejeitos de uma indústria por outra indústria, a chamada “economia zero resíduo”.

Mirabella, Castellani e Sala (2013) levantaram algumas possibilidades de utilização de rejeitos sólidos e líquidos oriundos da fabricação de alimentos na formulação de ração animal. Mirabella, Castellani e Sala (2013) verificaram que a maior porção de novos estudos envolvendo resíduos industriais ainda estão em escala piloto em laboratórios enquanto a parcela que envolvem estudos econômicos e utilização em escala industrial é promovida pela própria indústria. Sobre os resíduos, além das possibilidades envolvendo o aproveitamento de resíduos industriais, estudos mostram que matérias-primas exóticas podem ser empregadas como componentes valiosos na indústria de ração animal.

### 3.2 FUNGOS COMO ADITIVOS NA PRODUÇÃO DE RAÇÃO ANIMAL

Durante o processo produtivo, muitas rações para animais recebem aditivos – substâncias, micro-organismos ou preparações adicionados à pré-mistura ou ao produto semiacabado com um ou mais dos seguintes objetivos: satisfazer as necessidades nutricionais dos animais, proporcionar efeito coccidiostático ou histomonostático, melhorar as características do produto final, melhorar a produção e a performance do animal e proporcionar bem-estar ao animal (BORRÀS et al., 2011). Em qualquer processo de produção de ração animal que utilize micro-organismos, as características da ração obtida com a utilização desse aditivo dependem de alguns fatores, como o substrato, o micro-organismo e as enzimas ativas presentes no complexo enzimático produzido, que é característico de cada espécie de micro-organismo (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

Os fungos são micro-organismos eucarióticos altamente competentes em fermentações com os mais diferentes substratos e podem apresentar estrutura não filamentosa ou filamentosa, como a que ocorre com os basidiomicetos, os quais formam micélios (aglomerado de hifas) visíveis a olho nu, mas sem formar um tecido verdadeiro. Os basidiomicetos são fonte de proteínas e vitaminas e compreendem grande parte dos fungos comestíveis (ESPOSITO; AZEVEDO, 2010).

O número de fungos utilizados como aditivos em processos de produção de ração animal tem crescido nos últimos anos (BOURDICHON et al., 2012) e o crescimento microbiano deve ser analisado para maximizar esses processos fermentativos. O crescimento microbiano é influenciado por diversos fatores, como a temperatura e a relação carbono/nitrogênio (SCHMIDELL et al., 2001; TORTORA; FUNKE; CASE, 2005). Cada micro-organismo possui uma temperatura mínima, ótima e máxima de crescimento, podendo ser representado como uma faixa em que os limites são a temperatura mínima e a máxima e, à medida que a temperatura atual se aproxima desses limites e ao mesmo tempo se afastando da temperatura ótima, o crescimento microbiano decai cada vez mais (MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004; OKURA; RENDE, 2008; TRABULSI; ALTERTHUM, 2008). O carbono é um dos elementos mais importantes para o crescimento microbiano, sendo indispensável para a síntese das moléculas orgânicas, como os carboidratos, os lipídeos e os aminoácidos, que são indispensáveis para a viabilidade celular, e o nitrogênio é necessário também para a síntese de muitas moléculas orgânicas, como as proteínas, sendo necessário uma quantidade significativa de nitrogênio para a síntese dessas moléculas (PELCZAR JR.; CHAN; KRIEG; 1997).

Muitos autores têm estudado o emprego de fungos em fermentações para a produção de ração animal, havendo diversidade entre os micro-organismos e os substratos empregados nesses processos. Darwish, Bakr e Abdallah (2012) utilizaram *Pleurotus ostreatus* e *Saccharomyces cerevisiae* para aumentar o valor nutritivo do pedúnculo de milho, realizando um enriquecimento protéico dessa gramínea. O substrato foi inoculado com concentração fixa de *Pleurotus ostreatus* e concentrações diferentes de *Saccharomyces cerevisiae* e o maior grau de enriquecimento protéico foi obtido quando se utilizou os dois micro-organismos. No decorrer da fermentação, os níveis de celulose, hemicelulose e lignina decaíram e o material obtido, além de possuir um incremento nos níveis de proteína bruta, possuía maior digestibilidade quando comparado ao pedúnculo de milho antes da fermentação (DARWISH; BAKR; ABDALLAH, 2012).

Nitayavardhana e Khanal (2010) utilizaram o fungo comestível *Rhizopus microsporus* para a fermentação de vinhaça resultante da fermentação da cana-de-açúcar para a produção de etanol e obtiveram biomassa fúngica contendo 45,55 % de proteína, rica nos aminoácidos arginina e treonina. Nitayavardhana e Khanal (2011), corroborando com Nitayavardhana e Khanal (2010), cultivaram o *Rhizopus microsporus* em glicerol bruto derivado do processo de produção de biodiesel e observaram incremento na biomassa do fungo na proporção de  $0.83 \pm 0.02$  (incremento de biomassa em gramas/biomassa inicial em gramas), após 3 dias de cultivo.

Nigam (1990) produziu, em oito dias, ração animal rica em proteína a partir de cana-de-açúcar fermentada por duas cepas de *Polyporus sp.*, que, além do alto valor protéico, apresentou melhor digestibilidade quando comparada ao substrato não fermentado. Nigam (1990) utilizou 15 gramas de substrato não esterilizado e triturado em peneira de 35 mesh, que foi misturado ao inoculo. A relação Carbono/Nitrogênio foi ajustada para 20 e a fermentação foi conduzida com 70 % de umidade total. O conjunto foi incubado à temperatura de 30 °C por 8 dias com 99 % de umidade relativa do ar.

Rabêlo (2011) obteve, em 4 dias, um fermentado contendo 17 % de proteína pela fermentação da algaroba (*Prosopis juliflora*) por *Saccharomyces cerevisiae*. Os experimentos de Rabêlo (2011) foram desenvolvidos em bandejas de Policloreto de polivinila (PVC) (10 cm x 17,5 cm x 4,3 cm) contendo o substrato e o inoculo. O substrato foi seco à temperatura de 80 °C por 24 horas e triturado em liquidificador de forma que as sementes mantiveram-se intactas. O inoculo foi preparado em Erlenmeyers contendo 100 mL de meio de cultura e incubado à temperatura de 30 por 24 horas com agitação de 125 rpm. 100 mL de inoculo com  $10 \times 10^6$  células de levedura vivas/mL foram utilizados para cada reator contendo 47, 94 e 141 gramas de substrato, respectivamente.

Araújo et al. (2008) realizaram o enriquecimento protéico da palma forrageira (*Opuntia ficus*) utilizando, assim como Rabêlo (2011), a *Sacharomyces cerevisiae*. A concentração do inoculo foi de 1, 2 e 3 % em base úmida no substrato e conjunto, substrato e inoculo, foi incubado por 6, 12, 24 e 36 horas. O melhor ensaio foi o que utilizou a concentração de 3 % de inoculo e tempo de fermentação igual a 6 horas, com aumento no valor de proteína bruta de 4,4 % para 10,4 % ao final de 6 seis horas de fermentação.

Chan (2013) mostrou a utilização de águas residuais de restaurantes na fabricação de ração animal. Chan (2013) conseguiu diminuir os níveis de Óleo e Graxa (O&G), Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) em águas residuais de restaurante para menos de 50, 400 e 160 mg/L, respectivamente. O processo teve duração

de 1200 a 1400 horas e, após receberem tratamento biológico e químico, o resultado foi um suplemento protéico contendo em média 8,26 % de proteína.

Bisaria, Madan e Vasudevan (1997) demonstraram o aumento do valor nutricional e da digestibilidade de palha de arroz e de trigo obtidos após a bioconversão por *Pleurotus sajor-caju*. 15 g do substrato foram misturados com 60 mL de água e foi adicionado 20 % (3 g) de inóculo, sendo incubado à temperatura de 25 ° C por 25 dias.

### 3.3 NUTRIÇÃO ANIMAL

As rações animal, importadas ou nacionais, devem possuir a qualidade e o valor nutricional adequados ao animal à que ela será ofertada (BORRÀS et al., 2011) e essa adequação já vem sendo praticada há décadas, sobretudo nas grandes fazendas (GARG et al., 2013). Com a variação entre as espécies de animais, a necessidade nutricional varia. Porém, outros fatores também interferem nas necessidades nutricionais dos animais, como a idade, o sexo, o estágio vital, a finalidade produtiva e o estado de saúde, sendo que a dieta equilibrada é essencial para que os animais possam desenvolver as funções produtivas específicas (PERRY, 1983).

A dieta equilibrada deve conter carboidratos, lipídeos, proteínas, minerais, vitaminas (BORRÀS et al., 2011; PERRY, 1983) e, é claro, água, que é imprescindível em todos os processos metabólicos vitais comuns aos animais (GROSSBLATT, 2001). A dieta equilibrada, por contribuir para que o animal exiba o potencial genético, é essencial em programas de melhoramento e produção animal (GARG et al., 2013).

Os carboidratos são, muitas vezes, a maior fonte de energia da dieta dos animais (GROSSBLATT, 2001). Eles são constituídos por átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio e desempenham diversas funções importantes nos seres vivos, sendo classificados de acordo com o tamanho em: monossacarídeos; dissacarídeos e polissacarídeos. Os monossacarídeos são açúcares simples que contêm em cada molécula de três a sete átomos de carbono e os dissacarídeos são aqueles constituídos por dois monossacarídeos ligados por uma reação de síntese por desidratação, que é o inverso da hidrólise, denominada ligação glicosídica. Os polissacarídeos empregam um número bem maior de monossacarídeos, dezenas ou centenas (MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007). Os carboidratos desempenham diversas funções vitais, não somente para os animais, mas também para os demais seres vivos, como as pentoses – monossacarídeos que contêm cinco átomos de carbono – componentes da ribose (C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>) e da desoxirribose (C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>) encontradas no

ácido ribonucleico (RNA) e no ácido desoxirribonucleico (DNA), respectivamente. A glicose ( $C_6H_{12}O_6$ ) é outro carboidrato com função importante para os animais, pois é fonte de energia de uso imediato para as células, estando normalmente presente no sangue em níveis de 70 a 100 mg/100mL. (PERRY, 1983; TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

Além de estarem presentes em moléculas importantes para os seres vivos e serem fonte de energia para as células, os carboidratos são utilizados para reserva de energia, como o glicogênio, um polissacarídeo utilizado como reserva de energia nos animais e em algumas bactérias, e o amido, utilizado como reserva de energia em plantas, além de ser alimento para animais que possuem a enzima capaz de hidrolisar o amido. Os dissacarídeos e os polissacarídeos originam monossacarídeos por hidrólise, como a celulose, um polissacarídeo que compõe a parede celular das plantas e que está sempre presente na dieta dos animais herbívoros (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

Os lipídeos são moléculas geralmente apolares classificadas em: lipídeos simples; lipídeos complexos e esteroides. Os lipídeos simples, gorduras ou triglicerídeos, são constituídos apenas por átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio e são formados pela combinação de uma molécula de glicerol com uma, duas ou três moléculas de ácido graxo, que são formados por um grupo carboxila e uma longa cadeia de hidrocarbonetos. Os lipídeos complexos são aqueles que contêm outros elementos além daqueles presentes nos lipídeos simples, como o fósforo, o nitrogênio e o enxofre, e os esteroides contêm um grupo hidroxila (-OH) ligado a um anel de carbono, de quatro anéis de carbono que estão interconectados, sendo encontrados em animais, mico plasmas, fungos e plantas (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

Os lipídeos possuem papel muito importante para os animais, pois são fonte de energia concentrada (GROSSBLATT, 2001; PERRY, 1983), que é armazenada em forma de gordura no tecido conectivo intramuscular, na cavidade abdominal e no tecido conectivo subcutâneo (PERRY, 1983). Essa capacidade que os animais possuem de armazenar gordura no corpo é característica de cada espécie e independente da dieta, sendo notoriamente percebida em ruminantes ou monogástricos que possuem os carboidratos como a principal fonte de energia e armazenam grande quantidade de gordura. Os lipídeos formam, ainda, ácidos graxos essenciais (linoléico e linolênico), proporcionam palatabilidade aos alimentos e podem se associar a muitas vitaminas lipossolúveis (PERRY, 1983). Além disso, os lipídeos proporcionam outros efeitos envolvendo a alimentação animal, como a associação a outros nutrientes lipossolúveis e a redução da pulverulência da ração animal (GROSSBLATT, 2001).

As proteínas são constituídas por átomos de carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio e algumas contêm, ainda, átomos de enxofre. Elas representam 50 % – ou mais – do peso seco de uma célula e podem ser: enzimas, proteínas transportadoras, bacteriocinas, toxinas, proteínas de contração, proteínas estruturais, hormônios e anticorpos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005). As proteínas são encontradas em todas as células animais e vegetais e, quando hidrolisadas, originam os aminoácidos, que contêm um grupo carboxila ( $-\text{COOH}$ ), um grupo amino ( $-\text{NH}_2$ ) e um grupo lateral (R) ligados ao mesmo átomo de carbono, o carbono alfa ( $\text{C}\alpha$ ). O grupo lateral pode ser um átomo de hidrogênio, uma cadeia linear ou ramificada de átomos ou uma estrutura em anel, que pode ser cíclica (anel formado apenas por átomos de carbono) ou heterocíclica (anel formado por átomos de carbono e mais um átomo distinto). O grupo lateral pode conter grupos funcionais, como o grupo sulfidril ( $-\text{SH}$ ), o grupo hidroxila ( $-\text{OH}$ ) ou grupos carboxila ou grupos amino adicionais, e os aminoácidos que não possuem o grupo lateral, ou seja, os que possuem apenas o grupo carboxila e o grupo amino, são denominados de alfa-aminoácidos (MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004). 20 aminoácidos diferentes ocorrem naturalmente e formam as proteínas quando ligados por ligações peptídicas, que são ligação entre o átomo de carbono do grupo carboxila de um aminoácido e o átomo de nitrogênio do grupo amino de outro aminoácido (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007). As diferentes combinações entre a quantidade, o tipo e o arranjo, dos aminoácidos possibilitam a formação de inúmeras proteínas (PERRY, 1983), que, quando consumidas pelos animais, são digeridas e absorvidas na forma de aminoácidos no intestino do animal (GROSSBLATT, 2001).

Os minerais constituem a fração não volatilizada da matéria após a combustão à temperatura de  $550\text{ }^\circ\text{C}$ , pois a fração orgânica é volatilizada enquanto a fração inorgânica permanece após a combustão, sendo, esta, composta por uma variedade de minerais (PERRY, 1983, SPERLING, 1996). 17 minerais, da variedade de minerais encontrados na fração não volátil de uma dieta animal, possuem via de ação definida e são classificados em macro minerais (cálcio, fósforo, potássio, sódio, cloro, magnésio e enxofre), que compõe a estrutura de ossos e outros tecidos e que estão presentes nos fluídos do corpo, e micro minerais (iodo, ferro, zinco, manganês, cobre, cobalto, selênio, flúor, molibdênio e cromo), que desempenham funções específicas para o animal, como componentes do corpo dos animais, de cofatores de enzimas, de hormônios ou do sistema endócrino. Outros minerais podem estar presentes na dieta dos animais, mas eles não possuem via de ação definida e, apesar de não apresentarem importância prática, estudos que evidenciem essas vias de ação são necessários (GROSSBLATT, 2001).

As vitaminas são nutrientes que possuem diversas vias de ação, participando de diversos caminhos metabólicos, da composição de células do sistema imune e da expressão de genes. As vitaminas são classificadas em lipossolúveis, como a vitamina A, D, E, e K, e hidrossolúveis, como as B-vitaminas e a vitamina C, e, assim como ocorre com os demais nutrientes, deficiência pode desencadear doenças graves nos animais, como o raquitismo, que é originado pela quantidade insuficiente de vitamina D na dieta do animal. Algumas vitaminas podem ser sintetizadas em determinados animais após a ingestão do alimento, como é o caso da vitamina K, biotina, ácido fólico, niacina, ácido pantotênico, piridoxina, riboflavina, tiamina e vitamina B<sub>12</sub>, sintetizadas pelas bactérias do rumem de ruminantes, e da vitamina C, sintetizada pelo próprio ruminante (GROSSBLATT, 2001).

Os compostos geralmente monitorados nas análises das rações para animais são: carboidratos (extrato livre de nitrogênio e fibra bruta); lipídeos simples ou compostos; proteína (verdadeira ou mensurada pela concentração de nitrogênio); vitaminas lipossolúveis ou hidrossolúveis; matéria inorgânica; aditivos; contaminantes e resíduos (BORRÀS et al., 2011).

A ingestão de todos os nutrientes eleva a taxa do metabolismo dos animais, efeito denominado de ação dinâmica específica dos nutrientes, que é mais pronunciado na ingestão de proteínas do que na ingestão de carboidratos ou gorduras, estima-se que metade da ação dinâmica específica dos nutrientes seja originada pela ingestão de proteínas. Mas, esse efeito não é alcançado com alimentos que não contêm calorias como a celulose e os aminoácidos – ou as próprias proteínas – não são armazenados pelos animais no corpo quando estes ingerem proteínas em excesso, inclusive a ingestão de quantidades elevadas de aminoácidos pode inibir temporariamente a necessidade das células por aminoácidos. Esse excesso de aminoácidos passa pela desaminação e posterior oxidação, formando ureia no fígado, que é excretada pelos rins (PERRY, 1983). A ingestão de proteínas em excesso pode proporcionar efeitos negativos aos animais e o efeito proporcionado pela ingestão de proteínas, incluindo a ação dinâmica específica dos nutrientes e outros efeitos provenientes do consumo de proteínas pelos animais, depende da fonte desse nutriente (GROSSBLATT, 2001).

Em oposição à dieta equilibrada, a dieta não equilibrada, aquela que contém excesso ou escassez de nutrientes, caracteriza a subnutrição e origina impactos adversos na produtividade, saúde e bem-estar do animal, afetando a segurança e a qualidade dos produtos provenientes desse animal (GARG et al., 2013; GROSSBLATT, 2001) e podendo conduzir o animal à morbidez ou à morte (OROSZ, 2013).

Uma dieta balanceada possibilita, em muitos casos, além, é claro, da maximização da performance do animal, a redução dos custos com a ração animal, o que reduz os custos por unidade de produto final, pois a ração representa uma percentagem considerável do valor final de muitos dos produtos de origem animal (GARG et al., 2013).

### 3.4 ALGAROBA E A ALIMENTAÇÃO ANIMAL

Muitas espécies do gênero *Prosopis* já foram descritas, 44 com inúmeras variedades, e cada uma possui características intrínsecas (PASIECZNIK; HARRIS; SMITH, 2003), mas compartilhando diversas características, como a de invasor agressivo (SHIFERAW et al., 2004) e a de tolerância ao estresse hídrico (GOLUBOV; MANDUJANO; EGUIARTE, 2001; KAILAPPAN; GOTHANDAPANI; VISWANATHAN, 2000). Essas duas características foram avaliadas por Sato (2013), o qual verificou que a *Prosopis juliflora*, mesmo em terras com pouco potencial hídrico, disseminava e mantinha a característica de invasora. Nilsen et al. (1983) constataram que a *Prosopis glandulosa* tolerava extrema escassez de água devido à capacidade de captura de águas subterrâneas. Outras características importantes desse gênero são a tolerância à temperatura elevada e o bom crescimento em solo pobre (jovem) e muito salino (PASIECZNIK; HARRIS; SMITH, 2003) ou alcalino (GOEL; BEHL, 1995). As espécies do gênero *Prosopis* são muito comuns em ambientes áridos e semiáridos por todo o mundo (HARRIS et al., 2003) e participam do processo de fixação de nitrogênio nessas regiões, além de contribuir com a recuperação de áreas degradadas (PEREIRA, F. et al., 2013).

A algarobeira é uma planta que possui rápido crescimento, sendo a espécie mais comum e infame do gênero *Prosopis* (KAILAPPAN; GOTHANDAPANI; VISWANATHAN, 2000). Esse grande arbusto é nativo dos Semiáridos das Índias Ocidentais, do México, da América Central, da América do Norte e da América do Sul (NOOR; SALAM; KHAN, 1995), mas que foi introduzido em diversos outros habitats longe do original, como a África, a Ásia e a Austrália (PASIECZNIK; HARRIS; SMITH, 2003), sendo, em alguns casos, considerado ecologicamente importante (GOLUBOV; MANDUJANO; EGUIARTE, 2001) e, em outros, um problema nacional (ELFADL; LUUKKANEN, 2006).

As espécies do gênero *Prosopis* necessitam ser bem manejadas para que haja harmonia entre ela e o ambiente no qual está inserida, pois, se adotado o manejo correto, com a exploração racional dos recursos, essas espécies são uma alternativa benéfica e viável para a população e o ambiente semiárido (PEREIRA, F. et al., 2013).

O gênero *Prosopis* vêm recebendo atenção crescente nos últimos anos por possuírem um rápido crescimento, serem fonte de alimento mesmo com estresse hídrico e, além disso, devido ao crescimento selvagem e abundância em terras comuns. A algaroba é um recurso natural e livre com importância notória para diversas regiões de diferentes países (PASIECZNIK; HARRIS; SMITH, 2003)

Pasiecznik, Harris e Smith (2003) apontaram que a algarobeira produz elevada quantidade de frutos, cerca de 20-100 Kg por árvore madura, que são largamente consumidos, tanto por rebanhos de animais quanto por animais selvagens, e que esses frutos são encontrados também na época da estiagem, sendo uma importante fonte de alimento para os animais nesse período, podendo, ainda, passar por processamento para a produção de ração animal, a qual poderá ser ofertada de galinhas à camelos.

A algarobeira pertence à família *Leguminosea* e à subfamília *Mimosoideae* e cresce bem em pântanos e desertos costeiros, dunas, planícies, áreas montanhosas, solos secos e salinos, áreas degradadas e perturbadas e planícies com lençol freático superficial (NOOR; SALAM; KHAN, 1995), possuindo alta adaptabilidade em diferentes ambientes (SATO, 2013).

A alta palatabilidade e o valor nutricional dos frutos da algarobeira fazem com que eles sejam muito apreciados *in natura* por gado, cabras, ovelhas e outros animais, mesmo podendo causar a doença cara-torta (*pie face*) quando consumida por longos períodos de tempo (MAIOLI et al., 2012). Porém, muitos autores mostram que esses frutos podem ser consumidos, sem prejuízo para os animais, quando respeitado o limite tolerado de consumo. Mahgoub et al. (2005a) mostraram que cabras podem consumir os frutos da algarobeira em concentração de até 200 g/Kg na dieta, com ganho de peso sem prejuízo das proporções, do rendimento ou da composição química da carcaça.

Obeidat e Shdaifat (2013) avaliaram a introdução de vagens de algarobeira na dieta de ovinos (fêmeas) e verificaram que os frutos podem ser um potencial ingrediente para compor a dieta desses animais. Durante o experimento, observou-se, ainda, a redução do custo com a alimentação dos animais e o incremento na produção de leite (OBEIDAT; SHDAIFAT, 2013).

Obeidat, Abdullah e Al-Lataifeh (2008) realizaram a substituição de grão de cevada por frutos de algarobeira na alimentação de ovinos (machos) e verificaram que o consumo de até 200 g/Kg não afetou o desenvolvimento, a performance, a digestibilidade ou as características da carcaça ou da carne dos animais avaliados.

Mahgoub et al. (2005b) alimentaram ovinos (machos) com uma ração peletizada constituída, principalmente, por frutos de algarobeira, farelo de trigo, xarope e fibra, em substituição à ração comercial, e concluíram que essa formulação é uma alternativa viável para à alimentação de ovinos, reduzindo ainda os custos totais com a alimentação dos animais, sem prejuízo da performance.

### 3.5 IMPORTÂNCIA DA PRODUÇÃO DE RAÇÃO ANIMAL NO SEMIÁRIDO

O Semiárido Brasileiro é caracterizado pela vegetação Caatinga (AZAR; LARSON, 2000; GARIGLIO et al., 2010; PAIVA, 2010; PEREIRA, I. et al., 2001), solo pedregoso com pouca matéria orgânica (REDDY, 1983) e ambiente predominantemente seco, com restrições hídricas (KROL; BRONSTERT, 2007; KROL et al., 2001; QUEIROZ; GUTIERREZ-ALEMAN; LEÓN, 1986). O Semiárido Brasileiro possui uma área total de 969.589,4 km<sup>2</sup>, temperaturas médias anuais em torno de 27 °C, evaporação de 2.000 mm/ano e precipitações pluviométrica de 800 mm/ano, que, infelizmente, são mal distribuídas, sendo concentradas em apenas 3, 4 ou até 5 meses do ano. Essa região possui aproximadamente 25 milhões de habitantes e têm observado desertificações e mudanças climáticas significativas, que não são problemas unicamente dessa região, mas globais (LIMA; CAVALCANTE; MARIN 2011). Entretanto, esses fatores não impõem e não devem impor a inviabilidade socioeconômica ao Semiárido Brasileiro (BATISTA FILHO; MIGLIOLI, 2010; DUARTE, 2002).

A ideia de que os problemas do Semiárido Brasileiro só seriam resolvidos quando a diferença “negativa” entre a evaporação e as precipitações pluviométrica fosse resolvida tem sido cultivada há anos, mas os grandes problemas do Semiárido Brasileiro não são devido ao clima ou à geografia. Na verdade, acreditava-se que o ambiente do Semiárido Brasileiro deveria ser modificado para a tender as necessidades do homem e só então, nesse ambiente reformulado, o ser humano poderia se adaptar (BATISTA FILHO; MIGLIOLI, 2010). De fato, essa é uma ideia errônea e hoje é notório o grande potencial socioeconômico que o Semiárido Brasileiro possui e, na adaptação do homem ao Semiárido, estratégias públicas, como as políticas de desenvolvimento regional e rural e de proteção da Caatinga, são necessárias para maximizar o desenvolvimento socioeconômico (ARAUJO; ARRUDA, 2011; DUARTE, 2002; GARIGLIO et al., 2010; LIMA; CAVALCANTE; MARIN 2011). Inclusive, algumas estratégias, mesmo que pontuais, já estão sendo desenvolvidas no Semiárido Brasileiro (GHEYI et al., 2012).

### 3.6 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Experimentos são realizados todos os dias em muitas indústrias para incrementar o conhecimento sobre as variáveis que interferem processos produtivos. Os experimentos geralmente são conduzidos em séries de ensaios, nas quais a quantidade está ligada à confiabilidade dos resultados (ANTONY, 2003).

Para promover a qualidade do processo de forma contínua, é necessário conhecer o comportamento do processo, incluindo a variabilidade e o impacto das variáveis do processo. O interesse principal, em processos produtivos, é explorar as relações entre as variáveis de entrada do processo (*input*) e as características ou o desempenho do processo (*output*). Os métodos de estudos desses componentes geralmente empregados são baseados no estudo de uma variável em cada tempo (One-Variable-At-a-Time – OVAT), que é a variação de uma variável de cada vez enquanto todas as outras variáveis do experimento são mantidas fixas (ANTONY, 2003).

Os métodos estatísticos desempenham função importante na realização de experimentos, incluindo o planejamento, a análise e a interpretação de dados experimentais. Em muitos processos, diferentes variáveis influenciam uma determinada característica de um produto e, nesses casos, a melhor estratégia é planejar um experimento que retorne respostas válidas, confiáveis e sólidas, para que seja possível retirar conclusões referentes à eficácia, eficiência e economia do processo (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001).

Nos processos produtivos, nem todas as variáveis afetam o desempenho do processo com a mesma intensidade. Algumas variáveis podem ter fortes influências sobre o desempenho de produção, algumas podem ter influências do meio e algumas podem não ter nenhuma influência. Portanto, o objetivo de um planejamento de experimentos (DOE) é entender qual o conjunto de variáveis de um processo que afetam com maior intensidade o desempenho do processo e, em seguida, determinar os melhores níveis para estas variáveis (ANTONY, 2003).

O planejamento de experimentos (DOE) foi desenvolvido no início dos anos 1920 pelo Sr. Ronald Fisher na Rothamsted Agricultural Field Research Station, em Londres, Inglaterra. O planejamento fatorial possibilita analisar o efeito proporcionado por variáveis independentes e por interações de variáveis independentes, além de ser uma ferramenta útil na minimização do número de experimentos necessários para a obtenção de resultados consistentes (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

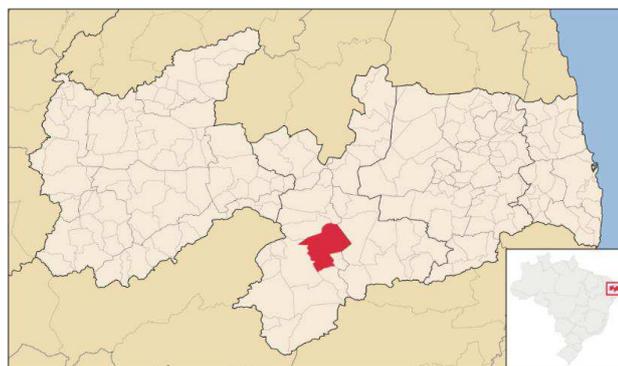
### 4.1 LOCAL DA REALIZAÇÃO DO TRABALHO

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Microbiologia da Unidade Acadêmica de Tecnologia do Desenvolvimento (UATEC) do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido (CDSA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), em Sumé, Paraíba, Brasil.

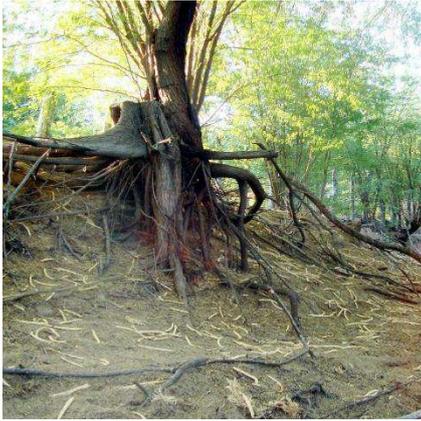
### 4.2 COLETA E PREPARO DO SUBSTRATO

Os frutos maduros da algarobeira (*Prosopis juliflora*) foram coletados em expedições no município de Serra Branca, Paraíba, Brasil (Mapa 1 e Fotografia 1). Os frutos foram selecionados, eliminando-se os que apresentaram alguma injúria, observada visualmente, fosse ela de natureza mecânica ou microbiológica. Os frutos selecionados foram picotados em máquina forrageira com peneira de 13 mm de diâmetro e secados em estufa de secagem à temperatura de 60 °C até massa constante. Finalizado o processo de secagem, o material foi armazenado em local protegido de luz solar, poeira e umidade, sendo imediatamente identificado (data, nome do componente e nome do responsável).

O substrato foi seco para preservar as características até que o processo fermentativo fosse iniciado, pois o crescimento de micro-organismos é função da atividade de água (AMORIM, 2010). Os frutos da algarobeira foram picotados para aumentar a área de contato entre o substrato e o micro-organismo, pois partículas de tamanho reduzido oferecem maior área superficial ao ataque microbiano (SANTOS, 2007).



Mapa 1 – Mapa do município de Serra Branca, Paraíba, Brasil  
Fonte: ABREU, 2006.



(a)



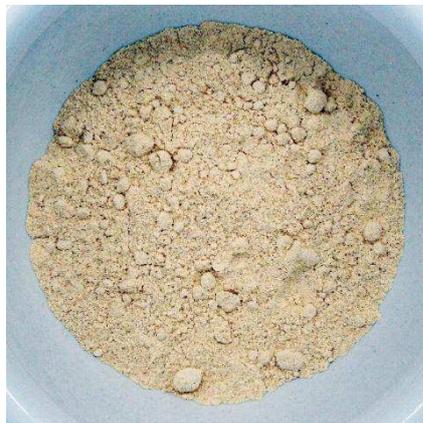
(b)

Fotografia 1 – Local no qual os frutos maduros da algarobeira foram coletados, (a) vista da cobertura vegetal do solo e raízes das algarobeiras e (b) vista da copa das algarobeiras

### 4.3 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO

#### 4.3.1 Preparo das amostras

As amostras úmidas foram maceradas em cadinhos até a obtenção de uma massa homogênea. A farinha de soja comercial (Fotografia 2), material rico em nitrogênio empregado na suplementação da algaroba (Fotografia 3), também foi caracterizada.



Fotografia 2 – Farinha de soja comercial



Fotografia 3 – Frutos maduros da algarobeira moídos e secos

#### 4.3.2 Determinação de umidade

Placas de Petri foram secas em estufa de secagem à temperatura de 100 °C por 30 min e pesadas. Então, elas receberam as amostras úmidas de 2 g, foram novamente pesadas e levadas para a estufa de secagem à temperatura de 100 °C até não ser observada mudança na massa. Após a secagem da amostra, as placas de Petri contendo a amostra seca foram pesadas. Após cada retirada das placas de Petri da estufa de secagem, elas foram transferidas para um dessecador, permanecendo por 30 min para que esfriassem antes das pesagens. A Equação 1 foi utilizada para o cálculo da umidade (HELDRICH, 1990).

$$\% U = \frac{(M_{AU} - M_{AS}) \times 100}{M_{AU}} \quad (1)$$

Onde:

$M_{AS}$  = Massa da amostra seca, g;

$M_{AU}$  = Massa da amostra úmida, g;

$\% U$  = Percentagem da umidade, %.

A umidade foi determinada para presumir possíveis causas de baixo ou alto rendimento no enriquecimento protéico do substrato e por ser necessária ao cálculo da quantidade de água destilada a ser adicionada na montagem do processo fermentativo (AMORIM, 2010).

A diferença estatística entre os valores dos ensaios experimentais foi analisada pelo teste de Fisher, realizado no software OriginPro 8.0 da OriginLab Corporation (1991-2007) para Windows, considerando significativos  $p < 0,05$ .

### 4.3.3 Determinação de pH

As amostras de 3 g secas conforme os procedimentos indicados no item 4.3.2 e 50 mL de água destilada foram adicionados em Becker de 100 mL. O conjunto foi deixado em repouso por 30 min, com agitações ocasionais, e o valor do pH foi aferido com pHmetro digital (HELDRICH, 1990).

O pH foi mensurado por ser um importante fator inerente ao meio de cultura que pode estimular, atenuar ou inibir o crescimento do micro-organismo e por ser utilizado para avaliar o desenvolvimento do processo fermentativo, pois mudanças no valor do pH de um meio de cultura podem indicar contaminações (SCHMIDELL et al., 2001).

### 4.3.4 Determinação de proteínas

A quantificação das proteínas utilizou 4 mL da solução reagente Biureto (0,15 % sulfato de cobre; 0,6 % tartarato de sódio e potássio; 3 % hidróxido de sódio; 0,1 % iodeto de potássio) e 1 g da amostra, diluída de forma que a absorbância lida no espectrofotômetro estivesse dentro da curva de calibração. A mistura foi agitada em agitador tipo vórtex por 30 s, permanecendo em repouso por 10 min após a agitação. As leituras foram realizadas por espectrofotômetro em 540 nm e a curva padrão foi construída com soro albumina bovina diluída em solução salina (0,9 %). O espectrofotômetro foi previamente zerado com uma amostra em branco contendo: 4 mL da solução reagente Biureto e 1 mL de água destilada (GORNALL; BARDAWILL; DAVID, 1949).

A determinação das proteínas foi adotada para o substrato visando estabelecer ligações entre o substrato antes que o processo fermentativo fosse iniciado e o fermentado, incluindo inferências referentes ao uso dos frutos maduros da algarobeira *in natura* como ração animal.

A curva padrão para a determinação das proteínas (Gráfico 1) foi construída com o intervalo de diluição da soro albumina bovina de 2 mg/mL com limites inferior e superior de 0 mg/mL e 20 mg/mL, respectivamente. O método utilizando a solução reagente Biureto mostrou-se mais confiável entre os limites de 2 mg/mL e 14 mg/mL com  $R^2 = 0,99857$ , pois Haaland (1989) afirma que valores de  $R^2$  próximos de 1 representam modelos melhores para predições.

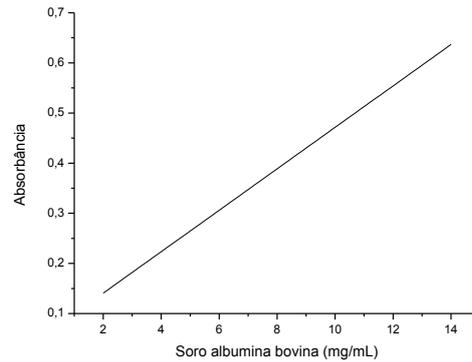


Gráfico 1 – Curva padrão para proteínas construída com a solução reagente Biureto e soro albumina bovina diluída em salina (0,9 %)

O Gráfico 1 foi empregado para a obtenção da Equação 2, ambos foram gerados no software OriginPro 8.0 da OriginLab Corporation (1991-2007) para Windows. A Equação 2 foi utilizada para o cálculo do teor de proteína das amostras a partir da absorbância lida no espectrofotômetro. Amostras de 1 g foram pesadas e diluídas com água destilada de forma que a absorbância lida no espectrofotômetro estivesse dentro da curva de calibração para que a concentração de proteínas pudesse ser calculada com base na Equação 2 (Fotografia 4).

$$ABS = (0,04134 \times P) + 0,058 \quad (2)$$

Onde:

**ABS** = Absorbância;

**P** = Proteínas, mg/mL.



Fotografia 4 – Tubos de ensaio contendo 1 mL de água destilada (branco) e amostras dos ensaios experimentais 1, 2, 3, 4, 9, 10, 11 e 12 acrescidos de 4 mL da solução reagente Biureto

A relação entre o teor de proteínas e o teor de nitrogênio presentes em uma amostra não é idêntica para todos os casos possíveis (DOSHI, 2003) e o fermentado obtido neste

trabalho ainda não possui relação específica entre a quantidade de proteínas e a quantidade de nitrogênio. Por isso, a proteína verdadeira foi mensurada neste trabalho e não a proteína bruta, que é obtida de forma indireta a partir do teor de nitrogênio e que poderia mascarar os resultados.

#### 4.3.5 Determinação de açúcares redutores

A quantificação dos açúcares redutores (AR) foi realizada adicionando 0,5 mL da solução reagente DNS (1 % 3,5-dinitrossalicílico; 1,6 % hidróxido de sódio; 30 % tartarato de sódio e potássio) e 0,5 g da amostra, diluída de forma que a absorbância lida no espectrofotômetro estivesse dentro da curva de calibração. A mistura foi aquecida por 5 min em água destilada sob ebulição e resfriada para temperatura ambiente. Após resfriada, 5 mL de água destilada foram adicionados à mistura. A intensidade da cor foi mensurada pelo espectrofotômetro em 540 nm e a curva padrão foi construída com glicose diluída em água destilada. O espectrofotômetro foi previamente zerado com uma amostra em branco contendo: 0,5 mL da solução reagente DNS e 0,5 mL de água destilada (MILLER, 1959).

Os açúcares redutores foram determinados por serem muito utilizados como indicadores da eficiência de processos fermentativos nos quais o substrato empregado é rico em açúcares (FERNANDES, 2003).

A curva padrão para a determinação dos açúcares redutores (Gráfico 2) foi construída com o intervalo de diluição da glicose de 0,2 mg/mL com limites inferior e superior de 0 mg/mL e 1 mg/mL, respectivamente. O método utilizando a solução reagente DNS mostrou-se confiável entre os limites de 0 mg/mL e 1 mg/mL com  $R^2 = 0,99978$ , pois Haaland (1989) afirma que valores de  $R^2$  próximos de 1 representam modelos melhores para predições.

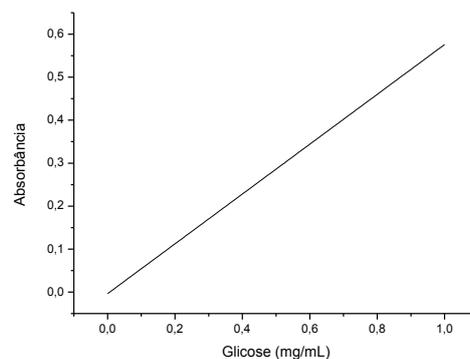


Gráfico 2 – Curva padrão para açúcares redutores construída com a solução reagente DNS e glicose diluída em água destilada

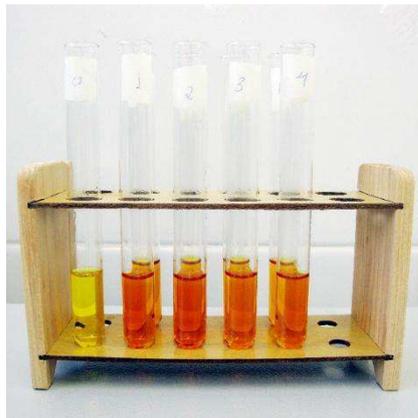
O Gráfico 2 foi empregado para a obtenção da Equação 3, ambos foram gerados no software OriginPro 8.0 da OriginLab Corporation (1991-2007) para Windows. A Equação 3 foi utilizada para o cálculo do teor de açúcares redutores (AR) das amostras a partir da absorbância lida no espectrofotômetro. Amostras de 1 g foram pesadas e diluídas com água destilada de forma que a absorbância lida no espectrofotômetro estivesse dentro da curva de calibração para que a concentração de AR pudesse ser calculada com base na Equação 3 (Fotografia 5).

$$ABS = (0,57983 \times AR) - 0,00378 \quad (3)$$

Onde:

**ABS** = Absorbância;

**AR** = Açúcares redutores, mg/mL.



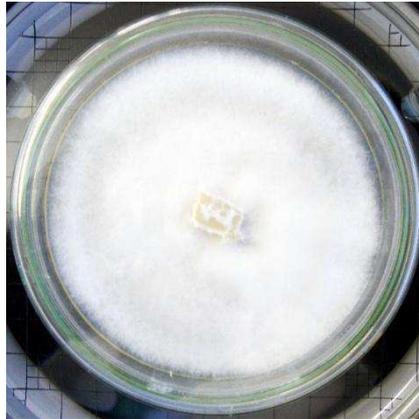
Fotografia 5 – Tubos de ensaio contendo 0,5 mL de água destilada (branco) e amostras dos ensaios experimentais 1, 2, 3, 4, 9, 10, 11 e 12 acrescidos de 0,5 mL da solução reagente DNS e 5 mL de água destilada

#### 4.4 PREPARAÇÃO DO INOCULO

O basidiomiceto *Lentinus crinitus* (L.) Fr. CCIBt 2611 (antes identificado por CCB 274) que estava depositado na Coleção de Cultura de Basidiomicetos do Instituto de Botânica de São Paulo (CCIBt) foi o micro-organismo utilizado para o enriquecimento protéico dos frutos da algarobeira. O repique do fungo foi realizado em placas de Petri contendo 20 mL de meio de cultura Extrato de Malte Ágar (MEA) (Tabela 1), sendo incubadas em *biochemical oxygen demand* (BOD) por 12 dias à temperatura de 28 °C (Fotografia 6).

Tabela 1 – Composição do meio de cultura Extrato de Malte Ágar

Componente	Concentração (%)
Ágar	1,5
Extrato de malte	2
Peptona	0,1

Fotografia 6 – *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 após 12 dias de cultivo à temperatura de 28 °C em meio de cultura MEA

O *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 foi o micro-organismo escolhido para o processo fermentativo das vagens da algaroba porque os fungos são altamente competentes em fermentações com os mais diferentes substratos. Além disso, os basidiomicetos são fonte de proteínas e vitaminas e compreendem grande parte dos fungos comestíveis (ESPOSITO; AZEVEDO, 2010).

#### 4.5 FERMENTAÇÃO DA ALGAROBA

Os frutos da algarobeira, material rico em carbono, foram suplementados com farinha de soja comercial, material rico em nitrogênio. A fermentação foi conduzida em potes fechados, com tampa e gaze entre a tampa e o pote de vidro, contendo 30 g do substrato suplementado com a farinha de soja comercial nas proporções estabelecidas no planejamento fatorial e 75 mL de água destilada, para a obtenção de aproximadamente 70 % de umidade após a esterilização (Fotografia 7). O conjunto foi esterilizado em autoclave (1 atm por 20 min) e, após frio, ¼ de placa de inóculo foi acrescido. O material foi incubado em *biochemical oxygen demand* (BOD) nas condições estabelecidas no planejamento fatorial (Fotografia 8).



Fotografia 7 – Pote, após esterilização, contendo 30 g do substrato suplementado com farinha de soja comercial e 75 mL de água destilada



Fotografia 8 – Processo fermentativo sendo conduzido em *biochemical oxygen demand* (BOD)

A umidade inicial foi estabelecida em torno de 70 % porque valores de umidade baixos inibem o crescimento fúngico (AMORIM, 2010). Esse procedimento foi adotado porque a umidade nativa do substrato (12,44 %) foi muito baixa.

#### 4.6 CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO DA FERMENTAÇÃO

Os procedimentos indicados no item 4.3 foram utilizados para a caracterização do produto da fermentação.

#### 4.7 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Um planejamento fatorial  $2^k$  ( $k = 3$ ) foi realizado. O planejamento fatorial avaliou o efeito das variáveis independentes: temperatura (T); suplementação com farinha de soja comercial (SFS) e tempo de fermentação (TF). As variáveis independentes codificadas e os valores reais para cada nível estão presentes na Tabela 2. A quantidade das proteínas foi a

variável dependente e o planejamento fatorial  $2^k$  foi realizado em duplicata com quadruplicada no ponto central, ou seja, composto por 20 ensaios experimentais (Tabela 3). A análise de variância (ANOVA), a estimativa dos efeitos, os gráficos de Pareto, os gráficos de superfície de resposta, os valores observados, previstos e residuais e o gráfico da predição dos valores previstos versus valores observados foram realizados utilizando o software STATISTICA 7.0 da StatSoft Inc. (1984-2004) para Windows, considerando significativos  $p < 0,05$ .

Tabela 2 – Variáveis independentes com diferentes níveis avaliados durante a fermentação e matriz dos ensaios para o planejamento fatorial  $2^k$  nas unidades reais e codificadas

Variável	Nível		
	-1 (Limite inferior)	0 (Ponto central)	1 (Limite superior)
T (°C)	28	34	40
SFS (%)	0	5	10
TF (Dias)	0	7	14

Notas: Símbolos e abreviações convencionais utilizados:

T – Temperatura

SFS – Suplementação com farinha de soja comercial

TF – Tempo de fermentação

Tabela 3 – Planejamento fatorial  $2^k$  em duplicata com quadruplicada no ponto central para a fermentação dos frutos da *Prosopis juliflora* por *Lentinus crinitus* CCIBt 2611

Ensaio	Variável independente		
	Temperatura (°C)	Suplementação com farinha de soja comercial (%)	Tempo de fermentação (dias)
1	28	0	0
2	40	0	0
3	28	10	0
4	40	10	0
5	28	0	14
6	40	0	14
7	28	10	14
8	40	10	14
9	28	0	0
10	40	0	0
11	28	10	0
12	40	10	0
13	28	0	14
14	40	0	14
15	28	10	14
16	40	10	14
17	34	5	7
18	34	5	7
19	34	5	7
20	34	5	7

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO

A caracterização do substrato (Tabela 4) foi realizada para que fosse possível presumir interações envolvendo o planejamento fatorial.

Tabela 4 – Resultado da caracterização do substrato

Componente	Proteínas (%)	Açúcares redutores (%)	Umidade (%)	pH
Frutos da algarobeira <i>in natura</i>	7,21**	2,36**	12,44	5,37
Farinha de soja comercial	58,06	1,30	5,99	6,75

Notas: Símbolo convencional utilizado:

\*\* – Considerando a umidade de 12,44 %

O teor de proteína obtido neste trabalho para os frutos maduros da algarobeira foi de 7,21 % e corrobora com o valor obtido por Borges (2004), 7,97 %. A diferença entre esses valores é possivelmente devido à origem da matéria-prima. O valor do teor de proteína para a farinha de soja comercial foi de 58,06. Este resultado corrobora com Laining (2003), que obteve o valor de 41 % de proteínas, com Tsukahara e Ushida (2000), que obtiveram o valor de 51,2 % de proteínas, e com Jezierny, Mosenthin e Bauer (2010), que obtiveram o valor de 54,1 % de proteínas, todos para grãos de soja destinados à produção de ração animal.

O teor de açúcares redutores obtido neste trabalho para os frutos maduros da algarobeira foi de 2,36 %. Este valor corrobora com Borges (2004), que obteve 3,04 % para os frutos da algarobeira. A diferença entre esses valores é possivelmente devido à origem da matéria-prima.

A umidade obtida neste trabalho para os frutos maduros da algarobeira, 12,44 %, é distinta da obtida por Borges (2004), 17,2 % para os frutos da algarobeira. A discrepância entre o valor de umidade obtido neste trabalho e o obtido por Borges (2004) é, certamente, proveniente de influências do ambiente sob os frutos da algarobeira, como a umidade relativa do ar, tempo de estocagem entre a coleta e o processamento, circulação de ar, incidência de raios solares ou outro fator que possa afetar a umidade dos frutos.

O valor do pH obtido para os frutos maduros da algarobeira foi de 5,37 e 6,75 para a farinha de soja comercial. O pH inferior dos frutos da algarobeira indica uma maior quantidade de ácidos presente nesse material que na farinha de soja comercial.

## 5.2 PROCESSO FERMENTATIVO

A Tabela 5 ilustra o resultado da caracterização dos ensaios obtidos a partir do planejamento fatorial detalhado no item 4.7 para o estudo do enriquecimento protéico da algaroba (*Prosopis juliflora*) utilizando *Lentinus crinitus* CCIBt 2611.

Tabela 5 – Resultado da caracterização de cada ensaio do planejamento fatorial da fermentação dos frutos da *Prosopis juliflora* por *Lentinus crinitus* CCIBt 2611

Ensaio	Variável dependente			
	Proteínas (%)	Açúcares redutores (%)	Umidade (%)	pH
1	5,41	5,11	71,65	5,10
2	4,61	5,38	72,52	5,11
3	13,32	4,36	72,08	5,24
4	10,56	4,51	72,28	5,20
5	4,93	7,00	73,08	4,72
6	4,64	15,55	72,41	4,76
7	11,25	7,13	73,30	4,96
8	9,03	14,04	73,38	4,84
9	4,17	5,22	73,48	5,12
10	3,77	5,12	72,46	5,11
11	12,84	4,11	72,29	5,25
12	12,63	4,29	72,41	5,24
13	4,64	7,83	72,90	4,75
14	4,21	15,94	73,22	4,78
15	9,22	7,13	72,32	4,95
16	7,73	14,22	73,13	4,96
17	6,82	7,60	73,94	4,94
18	6,46	8,45	72,80	4,92
19	7,33	6,80	73,12	4,90
20	5,19	6,88	72,48	4,89

A análise de variância (Tabela 6), a estimativa dos efeitos, os gráficos de Pareto, os gráficos de superfície de resposta, os valores observados, previstos e residuais e o gráfico da predição dos valores previstos versus valores observados para a variável dependente P (%) do planejamento fatorial da fermentação dos frutos da *Prosopis juliflora* por *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 apresentaram coeficiente de determinação ( $R^2$ ) = 0,9290 e Erro puro = 0,8106. O valor do  $R^2$  apresentado é plausível, uma vez que Haaland (1989) afirma que valores de  $R^2$  acima de 0,9 são consideráveis. O  $R^2$  é uma medida da qualidade do ajustamento da regressão

aos valores observados e o  $R^2 = 0,9290$  indica que 92,90 % da variação dos valores observados em torno da média é explicada pela regressão e que 7,10 % dessa variação é proveniente dos resíduos (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001).

A análise de variância (Tabela 6) mostra que as interações entre a temperatura e a suplementação com farinha de soja comercial e entre a temperatura e o tempo de fermentação não são significativas considerando  $p < 0,05$ . A ausência de significância mostra que o efeito no teor protéico proveniente das interações envolvendo essas variáveis independentes não foram explicadas pela regressão com 95 % de confiança.

Tabela 6 – Análise de variância para a variável dependente P (%) do planejamento fatorial da fermentação dos frutos da *Prosopis juliflora* por *Lentinus crinitus* CCIBt 2611

Fator	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F	p
(1) T <sup>L</sup> (°C)*	4,62	1	4,62	5,70	0,04
(2) SFS <sup>L</sup> (%)*	157,39	1	157,39	194,17	0,00
(3) TF <sup>L</sup> (dias)*	8,48	1	8,48	10,46	0,01
1 <sup>L</sup> by 2 <sup>L</sup>	1,41	1	1,41	1,74	0,21
1 <sup>L</sup> by 3 <sup>L</sup>	0,00	1	0,00	0,01	0,95
2 <sup>L</sup> by 3 <sup>L</sup> *	9,91	1	9,91	12,22	0,01
Falta de ajuste	4,98	2	2,49	3,07	0,09
Erro puro	8,92	11	0,81		
Total	195,70	19			

Notas: Símbolos e abreviações convencionais utilizados:

F – Valor para a distribuição F

p – Índice de significância

\* – Significativo considerando  $p < 0,05$

by – Interação

<sup>L</sup> – Linear

T – Temperatura

SFS – Suplementação com farinha de soja comercial

TF – Tempo de fermentação

O comportamento geralmente apresentado pelos micro-organismos para a variação da temperatura reforça a normalidade do crescimento fúngico ou ausência do crescimento fúngico neste processo fermentativo. A contribuição da temperatura, -1,07 %, no teor protéico do fermentado, foi significativa e baixa, como mostra a estimativa dos efeitos (Tabela 7).

Tabela 7 – Estimativa dos efeitos para a variável dependente P (%) do planejamento fatorial da fermentação dos frutos da *Prosopis juliflora* por *Lentinus crinitus* CCIBt 2611

Fator	Efeito	Erro padrão/Erro puro	<i>t</i> (11)	<i>p</i>	Coefficiente
Interceptação*	7,44	0,20	36,95	0,00	7,44
(1) T <sup>L</sup> (°C)*	-1,07	0,45	-2,39	0,04	-0,54
(2) SFS <sup>L</sup> (%)*	6,27	0,45	13,93	0,00	3,14
(3) TF <sup>L</sup> (dias)*	-1,46	0,45	-3,23	0,01	-0,73
1 <sup>L</sup> by 2 <sup>L</sup>	-0,59	0,45	-1,32	0,21	-0,30
1 <sup>L</sup> by 3 <sup>L</sup>	-0,03	0,45	-0,07	0,95	-0,02
2 <sup>L</sup> by 3 <sup>L</sup> *	-1,57	0,45	-3,50	0,01	-0,79

Notas: Símbolos e abreviações convencionais utilizados:

*t* – Valor para a distribuição *t*

*p* – Índice de significância

\* – Significativo considerando  $p < 0,05$

by – Interação

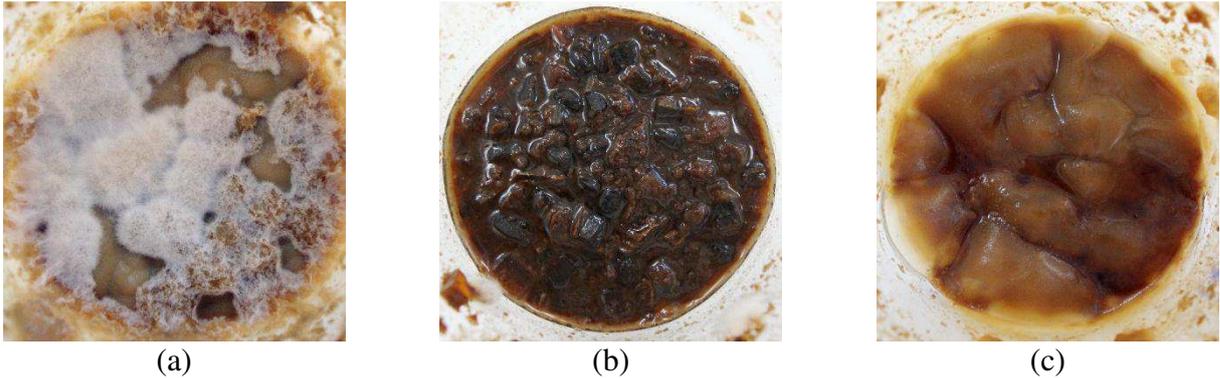
<sup>L</sup> – Linear

T – Temperatura

SFS – Suplementação com farinha de soja comercial

TF – Tempo de fermentação

A Fotografia 9 ilustra os ensaios experimentais 5, 6 e 17. Os ensaios 5 e 17 foram cultivados à temperatura de 28 °C e 34 °C, respectivamente, e apresentaram indícios visuais de crescimento do *Lentinus crinitus* CCIBt 2611. O ensaio 6 foi cultivado à temperatura de 40 °C e não apresenta quaisquer indícios visuais de crescimento do *Lentinus crinitus* CCIBt 2611, mostrando que a temperatura é um fator importante neste processo fermentativo e que análises posteriores envolvendo o estudo de temperaturas acima de 40 °C são desnecessárias, pois temperaturas acima de 40 °C, certamente, inibirão o crescimento do *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 em frutos de algarobeira. Os ensaios 5 e 6 possuem 14 dias de fermentação e o ensaio 17 possui 7 dias e, em termo de suplementação com farinha de soja comercial, as ensaios 5 e 6 não possuem suplementação e o ensaio 17 possui 5 % de suplementação com farinha de soja comercial. Na análise visual dos ensaios experimentais, todos os ensaios cultivados às temperaturas de 28 °C e 34 °C retiradas para análise após 14 dias e 7 dias de fermentação, respectivamente, apresentaram crescimento fúngico semelhantes entre si e todos os ensaios cultivados à temperatura de 40 °C retiradas para análise após 14 dias de fermentação não apresentaram quais quer indícios visuais de crescimento fúngico.



Fotografia 9 – Vista superior dos ensaios experimentais do processo fermentativo, (a) ensaio 5, (b) ensaio 6 e (c) ensaio 17

A variável suplementação com farinha de soja comercial apresentou o maior efeito gerando para a variável dependente P (%), 6,27 %, entre as variáveis independentes avaliadas neste trabalho (Tabela 7). O maior efeito proporcionado pela variável suplementação com farinha de soja comercial em relação as demais variáveis independentes pode ser percebido de forma mais prática no gráfico de Pareto (Gráfico 3). O efeito da suplementação com farinha de soja comercial coincidiu com as expectativas para este trabalho no que tange essa variável independente, pois a farinha de soja comercial possui alto teor de proteínas, como relatado por Laining (2003), Tsukahara e Ushida (2000) e Jezierny, Mosenthin e Bauer (2010).

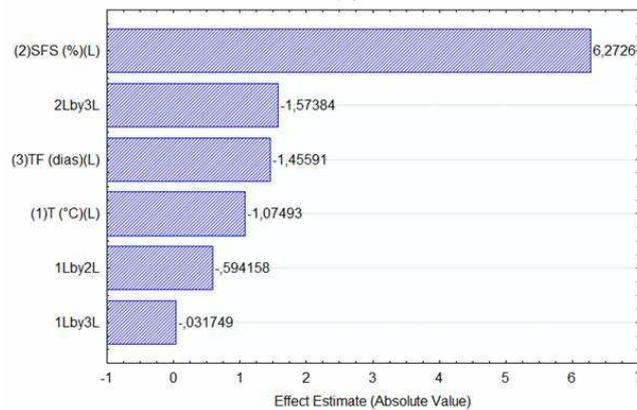


Gráfico 3 – Pareto da estimativa dos efeitos para a variável dependente P (%) do planejamento fatorial da fermentação dos frutos da *Prosopis juliflora* por *Lentinus crinitus* CCIBt 2611

A variável independente tempo de fermentação, com -1,46 % de contribuição para a variável dependente P (%) mostrou efeito significativo e baixo (Tabela 7 e Gráfico 3). O efeito da variável independente tempo de fermentação se mantém quase que constante para o limite inferior na variável suplementação com farinha de soja comercial. A interação entre a suplementação com farinha de soja comercial e o tempo de fermentação foi significativa,

como ilustrado nas linhas não paralelas do Gráfico 4, pois linhas não paralelas indicam uma interação significativa entre as variáveis independentes (CALADO; MONTGOMERY, 2003).

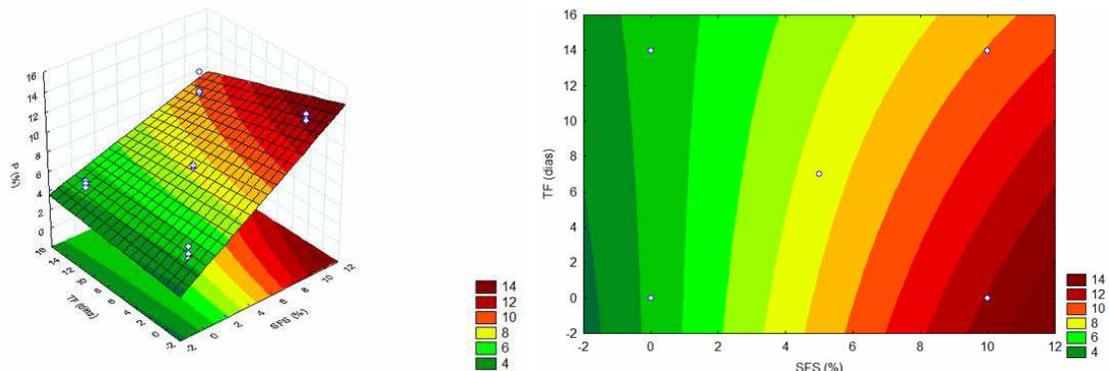


Gráfico 4 – Superfície de resposta das variáveis independentes tempo de fermentação e suplementação com farinha de soja comercial

O comportamento da variável tempo de fermentação não coincidiu com as expectativas para este trabalho em relação a essa variável independente, uma vez que o incremento no teor protéico da biomassa fúngica deve acompanhar o crescimento fúngico, ou seja, quanto maior a produção de biomassa, maior a quantidade total de proteína produzida (DIJKSTERHUIS; SAMSON, 2007; SAMSON et al, 2001). O crescimento do *Lentinus crinitus* CCIBt 2611, então, não foi suficiente para elevar o teor de proteínas do meio de cultura. Inclusive, o declínio no teor protéico do conjunto pode ter sido ocasionado pela ação do crescimento fúngico. Pois, fungos filamentosos e muitos outros micro-organismos podem converter proteínas em aminoácidos pela ação de proteases, enzimas que quebram as ligações peptídicas, transformando as proteínas em aminoácidos ou peptídeos (LEE; LEE, 2002) e o método que utiliza a solução reagente Biureto não detecta aminoácidos ou peptídeos, apenas proteínas (ZAIA; ZAIA; LICHTIG, 1998). Essa interferência inerente ao método pode ser a causa do efeito baixo do tempo de fermentação.

A Fotografia 10 (a) ilustra que o *Lentinus crinitus* CCIBt 2611, no enriquecimento protéico dos frutos da *Prosopis juliflora*, apresentou crescimento superficial considerável enquanto a Fotografia 10 (b) ilustra que o crescimento foi basicamente superficial e que a parcela do meio de cultura que está abaixo da camada da biomassa fúngica, praticamente, não foi penetrada pelo crescimento do micro-organismo. Inclusive, uma camada vazia está presente entre a camada de biomassa fúngica e o meio de cultura.



Fotografia 10 – Ensaio 5 do planejamento fatorial da fermentação dos frutos da *Prosopis juliflora* por *Lentinus crinitus* CCIBt 2611, (a) vista superior e (b) vista lateral

O micro-organismo empregado neste trabalho é aeróbio e esse fato pode explicar o perfil de crescimento do *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 no meio de cultura empregado. Na verdade, a forma de cultivo também se enquadra como fator determinante para esse comportamento. O cultivo em shaker desse processo fermentativo deve, então, ser investigado.

O modelo linear padrão para o tipo de planejamento proposto neste trabalho (Equação 4) (ANTONY, 2003) foi utilizado para construir o modelo estatístico do comportamento da variável dependente P (%) do planejamento fatorial do enriquecimento protéico dos frutos da *Prosopis juliflora* (Equação 5). O modelo estatístico apresentado na Equação 5, que recebe as variáveis independentes, codificadas, oferece um modelo que retorna o valor do enriquecimento protéico dos frutos da *Prosopis juliflora* em função da temperatura, da suplementação com farinha de soja comercial e do tempo de fermentação.

$$y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + \varepsilon \quad (4)$$

Onde:

$y$  = Resposta;

$\varepsilon$  = Erro puro;

$b_1$  = Coeficiente da temperatura;

$b_0$  = Coeficiente da interceptação;

$X_1$  = Variável temperatura codificada;

$b_3$  = Coeficiente do tempo de fermentação;

$b_{12}$  = Coeficiente da interação entre  $b_1$  e  $b_2$ ;

$b_{13}$  = Coeficiente da interação entre  $b_1$  e  $b_3$ ;

$b_{23}$  = Coeficiente da interação entre  $b_2$  e  $b_3$ ;

$X_3$  = Variável tempo de fermentação codificada;

$b_2$  = Coeficiente da suplementação com farinha de soja comercial;

$X_2$  = Variável suplementação com farinha de soja comercial codificada.

$$P = 7,44 - 0,54X_1 + 3,17X_2 - 0,73X_3 - 0,79X_{23} \pm 0,81 \quad (5)$$

Onde:

P = Proteínas, %;

X<sub>1</sub> = Variável temperatura codificada;

X<sub>23</sub> = Coeficiente da interação entre X<sub>2</sub> e X<sub>3</sub>;

X<sub>3</sub> = Variável tempo de fermentação codificada;

X<sub>2</sub> = Variável suplementação com farinha de soja comercial codificada.

Os resíduos, diferença entre os valores previstos e os valores observados, estão apresentados na Tabela 8 e a dispersão dos valores previstos versus os valores observados está ilustrada no Gráfico 5. Um modelo ideal é aquele no qual os resíduos são iguais a zero, indicando que a regressão explica toda a variação dos valores observados em torno da média (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001). Para o modelo proposto no presente trabalho, o R<sup>2</sup> = 0,9290 indica que o modelo é plausível por estar acima de 0,9 (HAALAND, 1989) e o erro puro = 0,8106 é bom por ser inferior aos valores observados, indicando a reprodutibilidade do experimento (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001).

Tabela 8 – Valores observados, previstos e residuais para a variável dependente P (%) do planejamento fatorial da fermentação dos frutos da *Prosopis juliflora* por *Lentinus crinitus* CCIBt 2611

Ensaio	Observado	Previsto	Resíduo
1	5,40639	4,46753	0,93886
2	4,60813	4,01851	0,58962
3	13,31640	12,90820	0,40820
4	10,55878	11,27086	-0,71208
5	4,93469	4,61720	0,31749
6	4,64441	4,10468	0,53973
7	11,24819	9,91020	1,33799
8	9,03483	8,20936	0,82547
9	4,17271	4,46753	-0,29481
10	3,77358	4,01851	-0,24492
11	12,84470	12,90820	-0,06350
12	12,62700	11,27086	1,35613
13	4,64441	4,61720	0,02721
14	4,20900	4,10468	0,10432
15	9,21626	9,91020	-0,69394
16	7,72859	8,20936	-0,48077
17	6,82148	7,43832	-0,61684
18	6,45864	7,43832	-0,97968
19	7,32946	7,43832	-0,10885
20	5,18868	7,43832	-2,24964

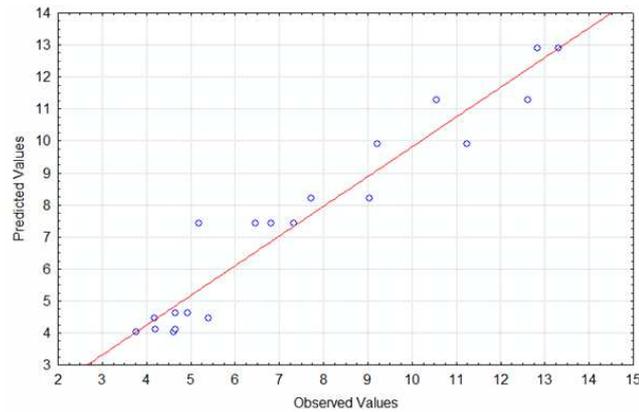


Gráfico 5 – Predição dos valores previstos versus valores observados para a variável dependente P (%) do planejamento fatorial do processo fermentativo

A Tabela 9 mostra a qualidade do modelo ajustado ao experimento realizado neste trabalho. O valor do F calculado da regressão foi de 35,54 e o valor do F tabelado para 7 graus de liberdade da soma quadrática da regressão e 12 graus de liberdade da soma quadrática dos resíduos é de 2,91. A regressão é, então, significativa, pois a relação mostrada na Equação 6, nesse caso, é maior que 1 e Box et al. (1978) afirma que quando essa relação for maior que 1 o resultado é estatisticamente significativo. O valor do F calculado da falta de ajuste foi 3,07 e o valor do F tabelado para 2 graus de liberdade da soma quadrática da falta de ajuste e 11 graus de liberdade da soma quadrática do erro puro é de 3,98. A falta de ajuste é, então, não significativa, pois a relação mostrada na Equação 6, nesse caso, é menor que 1 e Box et al. (1978) afirma que quando essa relação for menor que 1 o resultado não é estatisticamente significativo. Isso significa que os dados experimentais ajustaram-se ao modelo obtido e que esse modelo é estatisticamente significativo, pois a regressão é significativa, e estatisticamente preditivo, pois a falta de ajuste não é significativa.

Tabela 9 – Análise de variância (ANOVA) para a variável dependente P (%)

Fonte de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F
Regressão	186,70	7	26,67	35,54
Resíduo	9,01	12	0,75	
Falta de ajuste	4,98	2	2,49	3,07
Erro puro	8,92	11	0,81	
Total	209,60	32		

Notas: Abreviação convencional utilizada:

F – Valor para a distribuição F

$$\frac{F_C}{F_T} \quad (6)$$

Onde:

$F_T$  = Valor tabelado para o teste F;

$F_C$  = Valor calculado para o teste F.

A redução da porosidade do substrato em um processo fermentativo pode ser ocasionada pelo excesso de umidade. Essa diminuição da porosidade pode reduzir a difusão de oxigênio e trocas gasosas entre o micro-organismo e o ambiente, prejudicando o desenvolvimento do micro-organismo (HOLKER et al., 2004). Muitos fatores podem afetar a variação da umidade, como a ação dos microrganismos sobre o substrato, a oxidação dos carboidratos que libera água e o aumento do calor liberado pelo processo metabólico capaz de elevar a temperatura do substrato, provocando um decréscimo no teor de umidade devido à evaporação (DOELLE et al. 1992). Em suma, o teor da umidade do substrato é um fator muito importante quando o objetivo é otimizar o processo fermentativo, pois esse componente afeta o crescimento microbiano e a formação de produto, pelo fato de determinar a quantidade de água inicial disponível para o micro-organismo e por fazer com que o substrato se dilate, facilitando, a penetração de micélio para a utilização do substrato (NEIDLEMAN; LASKIN, 1993).

A umidade verificada nos ensaios experimentais mostra que não houve declínio em função do tempo no valor desse componente durante o decorrer do processo fermentativo (Tabela 10). Esse fato indica que o baixo enriquecimento protéico obtido para os frutos da algarobeira não foi devido à quedas ou à elevações no teor de umidade, o valor médio da umidade dos ensaios experimentais foi de 72,76 %.

O comportamento do teor de umidade neste trabalho foi o oposto ao obtido por Viccini (2004), que, trabalhando com fermentação sólida usando fungos filamentosos em cinéticas de 30 dias, observou a variação na disponibilidade da água, sendo que, em todos os tratamentos, o teor de umidade do substrato diminuiu com o aumento do tempo de fermentação.

Tabela 10 – Tempo de fermentação e umidade para cada ensaio do processo fermentativo

Ensaio	Tempo de fermentação (dias)	Umidade (%)
1	0	71,65 <sup>A</sup>
2	0	72,52 <sup>A</sup>
3	0	72,08 <sup>A</sup>
4	0	72,28 <sup>A</sup>
5	14	73,08 <sup>A</sup>
6	14	72,41 <sup>A</sup>
7	14	73,30 <sup>A</sup>
8	14	73,38 <sup>A</sup>
9	0	73,48 <sup>A</sup>
10	0	72,46 <sup>A</sup>
11	0	72,29 <sup>A</sup>
12	0	72,41 <sup>A</sup>
13	14	72,90 <sup>A</sup>
14	14	73,22 <sup>A</sup>
15	14	72,32 <sup>A</sup>
16	14	73,13 <sup>A</sup>
17	7	73,94 <sup>A</sup>
18	7	72,80 <sup>A</sup>
19	7	73,12 <sup>A</sup>
20	7	72,48 <sup>A</sup>

Notas: Abreviação convencional utilizada:

<sup>A</sup> = Não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Fisher

O pH pode estimular, atenuar ou inibir o crescimento do micro-organismo e pode ser utilizado para avaliar o desenvolvimento do processo fermentativo (SCHMIDELL et al., 2001). Como foi visto na Tabela 5, o pH dos ensaios experimentais iniciou e finalizou em valores ácidos. Como o pH é um importante fator inerente ao meio de cultura, investigações posteriores para esse componente devem ser realizadas.

## 6 CONCLUSÃO

- A temperatura e o tempo de fermentação não apresentaram influência no teor protéico do fermentado.
- As melhores respostas para o teor protéico do fermentado foram obtidas nos ensaios 3 e 11, com 13,32 % e 12,84 % de proteína, respectivamente.
- A melhor condição do enriquecimento protéico da algaroba (*Prosopis juliflora*) utilizando *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 foi com 10 % de suplementação com farinha de soja comercial.
- O modelo estatístico gerado a partir do planejamento fatorial foi estatisticamente significativo e estatisticamente preditivo, com  $R^2 = 0,9290$  e erro puro = 0,8106.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, R. L. **Map locator of Paraíba's Serra Branca city**. [S.l.]: Wikimedia Commons, 2006. Disponível em: <[http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Paraiba\\_Municip\\_Serra\\_Branca.svg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Paraiba_Municip_Serra_Branca.svg)>. Acesso em: 02 jun. 2014.
- ADAMS, C. A. **Total nutrition: feeding animals for health and growth**. Nottingham: Nottingham University Press, 2001. ISBN 1-897676-94-8.
- AMORIM, B. C. **Estudo da produção de celulasas por fermentação semi-sólida em bagaço de caju (*Anarcadium occidentale* L.) utilizando o microrganismo *Trichoderma* sp.** 2010. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2010.
- ANTONY, J. **Design of experiments for engineers and scientists**. [S.l.]: Elsevier Ltd., 2003. ISBN 978-0-7506-4709-0.
- ARAÚJO, J. M.; ARRUDA, D. B. Práticas de sustentabilidade no semiárido nordestino: direito ao desenvolvimento econômico-sustentável. **Veredas do Direito**, Belo Horizonte, v. 8, n. 16, p. 235-260, 2011. ISSN 1806-3845.
- ARAÚJO, L. F. et al. Enriquecimento protéico da palma forrageira com *Saccharomyces cerevisiae* para alimentação de ruminantes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [S.l.], v. 60, n. 2, p. 401-407, 2008. ISSN 0102-0935.
- AZAR, C.; LARSON, E. D. Bioenergy and land-use competition in Northeast Brazil. **Energy for Sustainable Development**, [S.l.], v. 4, n. 3, 2000. ISSN 0973-0826.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 2 ed. Campinas: Editora Unicamp, 2001. ISBN 85-268-0544-4.
- BATISTA FILHO, M.; MIGLIOLI, T. C. (Org.). **Viabilização do semiárido do Nordeste: um enfoque multidisciplinar**. Recife: LICEU, 2010. ISBN 978-85-60312-25-2.
- BISARIA, R.; MADAN, M.; VASUDEVAN, P. Utilisation of agro-residues as animal feed through bioconversion. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 59, p. 5-8, 1997. ISSN 0960-8524.
- BORGES, I. F. **Obtenção e caracterização do melado de algaroba (*Prosopis juliflora* (sw) d.c.) e sua utilização em uma formulação alimentícia**. 2004. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2004.
- BORRÀS, S. et al. Analysis of antimicrobial agents in animal feed. **Trends in Analytical Chemistry**, [S.l.], v. 30, n. 7, p. 1042-1064, 2011. ISSN 0165-9936.
- BOURDICHON, F. et al. Food fermentations: microorganisms with technological beneficial use. **International Journal of Food Microbiology**, [S.l.], v. 154, p. 87-97, 2012. ISSN 0168-1605.

BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. **Statistics for experiments: an introduction to design, data analysis and model building**. New York: Wiley e Sons Inc., 1978. ISBN 978-04-710-9315-2.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. C. **Planejamento de experimentos usando o Statística**. Rio de Janeiro: E-papers Serviços Editoriais Ltda., 2003. ISBN 85-87922-83-1.

CAVALCANTE; A. C. R.; BARROS, N. N. Sistema de produção de caprinos e ovinos de corte para o Nordeste Brasileiro. **Sistemas de Produção**, [S.l.], v. 1, 2005. ISSN 1809-1822.

CHAN, H. Separation of pollutants from restaurant effluents as animal feed, fertilizer and renewable energy to produce high water quality in a compact área. **Water Resources and Industry**, [S.l.], v. 3, p. 35-47, 2013. ISSN 2212-3717.

DARWISH, G. A. M. A.; BAKR, A. A.; ABDALLAH, M. M. F. Nutritional value upgrading of maize stalk by using pleurotus ostreatus and Saccharomyces cerevisiae in solid state fermentation. **Annals of Agricultural Science**, [S.l.], v. 57, n. 1, p. 47-51, 2012. ISSN 0570-1783.

DIJKSTERHUIS, J.; SAMSON, R. A. (Eds.). **Food Mycology: a multifaceted approach to fungi and food**. Boca Raton: CRC Press, 2007. ISBN 978-14-200-2098-4.

DOELLE, H. W.; MITCHELL, D. A.; ROLZ, C. E. **Solid substrate cultivation**. Michigan: Elsevier Applied Science, 1992. ISBN 978-18-516-6879-3.

DOSHI, J. B. et. al. Comparative quantitation for the protein content of diphtheria and tetanus toxoids by dc protein assay and kjeldahl method. **Biologicals**, [S.l.], v. 31, p. 187-189. 2003. ISSN 1045-1056.

DUARTE, R. S. Dois modelos para a convivência do produtor rural com o ambiente do Semi-árido Nordeste. **Revista Econômica do Nordeste**, Fortaleza, v. 33, n. 1, p. 24-34, 2002. ISSN 0100-4956.

ELFADL, M. A.; LUUKKANEN, O. Field studies on the ecological strategies of Prosopis juliflora in a dryland ecosystem: 1. A leaf gas exchange approach. **Journal of Arid Environments**, [S.l.], v. 66, p.1-15, 2006. ISSN 0140-1963.

ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. (Org.). **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. 2. ed. Caxias do Sul: Educs, 2010. ISBN 978-85-7061-562-6. (Coleção Biotecnologia).

EUROPEAN FEED MANUFACTURERS' FEDERATION. **The challenge of securing the long term feed material supply in Europe**. Bruxelles, 2013. (Série Feedfacts).

FERNANDES, A. C. **Cálculos na agroindústria de cana-de-açúcar**. 2 ed. Piracicaba: Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil, 2003.

GARG, M. R. et al. Effects of feeding nutritionally balanced rations on animal productivity, feed conversion efficiency, feed nitrogen use efficiency, rumen microbial protein supply, parasitic load, immunity and enteric methane emissions of milking animals under field conditions. **Animal Feed Science and Technology**, [S.l.], v. 179, p. 24-35, 2013. ISSN 0377-8401.

GARIGLIO, M. A. et al. (Org.). **Uso sustentável e conservação dos recursos florestais da Caatinga**. Brasília: Serviço Florestal Brasileiro, 2010. ISBN 978-85-63269-04-1.

GATEL, F. Protein quality of legume seeds for non-ruminant animals: a literature review. **Animal Feed Science and Technology**, [S.l.], v. 45, p. 317-348, 1994. ISSN 0377-8401.

GHEYI, H. R. et al. **Recursos hídricos em regiões semiáridas: estudos e aplicações**. Campina Grande: Instituto Nacional do Semiárido; Cruz das Almas: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2012. ISBN 978-85-64265-03-5.

GOEL, V. L.; BEHL, H. M. Fuelwood production potential of six *Prosopis* species on an alkaline soil site. **Biomass and Bioenergy**, [S.l.], v. 8, n. 1, p. 17-20, 1995. ISSN 0961-9534.

GOLUBOV, J.; MANDUJANO, M. C.; EGUIARTE, L. E. The paradox of Mezquites (*Prosopis* spp.): invading species or biodiversity enhancers?. **Boletín de la Sociedad Botánica de México**, [S.l.], v. 69, p. 21-28, 2001. ISSN 0366-2128.

GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **The Journal of Biological Chemistry**, [S.l.], v. 177, p. 751-766. 1949. ISSN 0021-9258.

GROSSBLATT, N. (Ed.). **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th. ed. Washington: National Academy Press, 2001. ISBN 0-309-06997-1.

HAALAND, P. D. **Experimental design in biotechnology**. New York: Marcel Dekker Inc., 1989. ISBN 0-8247-7881-2.

HARRIS, P. J. C. et al. Differentiation of *Prosopis juliflora* (sw.) dc. and *p. pallida* (h. & b. ex. willd.) h.b.k. using foliar characters and ploidy. **Forest Ecology and Management**, [S.l.], v. 180, p. 153-164, 2003. ISSN 0378-1127.

HELRICH, K. (Ed.). **Official methods of analysis of the association of official analytical chemists**. 15th. ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists Inc., 1990. v. 1. ISBN 0-935584-42-0.

HOLKER, U.; HOFER, M.; LENZ, J. Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S.l.], v. 64, p. 175-186, 2004. ISSN 1432-0614.

JEZIERNY, D.; MOSENTHIN, R.; BAUER, E. The use of grain legumes as a protein source in pig nutrition: a review. **Animal Feed Science and Technology**, [S.l.], v. 157, p. 111-128, 2010. ISSN 0377-8401.

KAILAPPAN, R.; GOTHANDAPANI, L.; VISWANATHAN, R. Production of activated carbon from *Prosopis* (*Prosopis juliflora*). **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 75, p. 241-243, 2000. ISSN 0960-8524.

KIRCHNER, A. et al. Discontinuous addition of small volumes of liquids in an intensive mixer to animal supplement feed with different particle size distributions. **Powder Technology**, [S.l.], v. 239, p. 358-365, 2013. ISSN 0032-5910.

- KROL, M. S.; BRONSTERT S. Regional integrated modelling of climate change impacts on natural resources and resource usage in Semi-arid Northeast Brazil. **Environmental Modelling & Software**, [S.l.], v. 22, p. 259-268, 2007. ISSN 1364-8152.
- KROL, M.S. et al. The semi-arid integrated model (sim), a regional integrated model assessing water availability, vulnerability of ecosystems and society in NE-Brazil. **Physics and Chemistry of the Earth**, [S.l.], v. 26, n. 7-8, p. 529-533, 2001. ISSN 1464-1909.
- LAINING, A. Apparent digestibility of selected feed ingredients for humpback grouper, *Cromileptes altivelis*. **Aquaculture**, [S.l.], v. 218, p. 529-538, 2003. ISSN 0044-8486.
- LEE, C.; LEE, S. S. Cereal Fermentation by fungi. **Applied Mycology and Biotechnology**, [S.l.], v. 2, p. 151-170, 2002. ISSN 1432-0614.
- LIMA, R. C. C.; CAVALCANTE, A. M. B.; MARIN, A. M. P. (Ed.). **Desertificação e mudanças climáticas no Semiárido Brasileiro**. Campina Grande: Instituto Nacional do Semiárido, 2011. ISBN 978-85-64265-02-8.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. Tradução e revisão técnica de Cynthia Maria Kyan. **Microbiologia de brock**. 10. ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004. ISBN 978-85-87918-51-2.
- MAHGOUB, O. et al. Evaluation of Meskit (*Prosopis juliflora*) pods as a feed for goats. **Animal Feed Science and Technology**, [S.l.], v. 121, p. 319-327, 2005. ISSN 0377-8401.
- \_\_\_\_\_. The use of a concentrate containing meskit (*prosopis juliflora*) pods and date palm by-products to replace commercial concentrate in diets of Omani Sheep. **Animal Feed Science and Technology**, [S.l.], v. 120, p. 33-41, 2005. ISSN 0377-8401.
- MAIOLI, M. A. et al. Mechanism for the uncoupling of oxidative phosphorylation by juliprosopine on rat brain mitochondria. **Toxicon**, [S.l.], v. 60, p. 1355-1362, 2012. ISSN 0041-0101.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, [S.l.], v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959. ISSN 1520-6882.
- MIRABELLA, N.; CASTELLANI, V.; SALA, S. Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review. **Journal of Cleaner Production**, [S.l.], p. 1-14, 2013. ISSN 0959-6526. No prelo.
- NEIDLEMAN, S.; LASKIN, A. I. **Advances in applied microbiology**. [S.l.]: Elsevier Inc., 1993. v. 38. ISBN 978-01 200-2638-8.
- NIGAM, P. Investigation of some factors important for solid-state fermentation of sugar cane bagasse for animal feed production. **Enzyme and Microbial Technology**, [S.l.], v. 12, p. 808-811, 1990. ISSN 0141-0229.
- NILSEN, E. T. et al. Diurnal and seasonal water relations of the desert phreatophyte *Prosopis glandulosa* (Honey mesquite) in the Sonoran Desert of California. **Ecology**, [S.l.], v. 64, n. 6, p. 1381-1393, 1983. ISSN 0012-9658.

NITAYAVARDHANA, S.; KHANAL, S. K. Biodiesel-derived crude glycerol bioconversion to animal feed: a sustainable option for a biodiesel refinery. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 102, p. 5808-5814, 2011. ISSN 0960-8524.

NITAYAVARDHANA, S.; KHANAL, S. K. Innovative biorefinery concept for sugar-based ethanol industries: production of protein-rich fungal biomass on vinasse as an aquaculture feed ingredient. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 101, p. 9078-9085, 2010. ISSN 0960-8524.

NOOR, M.; SALAM, U.; KHAN, M. A. Allelopathic effects of prosopis juliflora swartz. **Journal of Arid Environments**, [S.l.], v. 31, p. 83-90, 1995. ISSN 0140-1963.

OBEIDAT, B. S.; ABDULLAH, A. Y.; AL-LATAIFEH, F. A. The effect of partial replacement of barley grains by Prosopis juliflora pods on growth performance, nutrient intake, digestibility, and carcass characteristics of awassi lambs fed finishing diets. **Animal Feed Science and Technology**, [S.l.], v. 146, p. 42-54, 2008. ISSN 0377-8401.

OBEIDAT, B. S.; SHDAIFAT, M. M. Partial substitution of barley grain with Prosopis juliflora pods in lactating awassi ewes' diets: effect on intake, digestibility, and nursing performance. **Small Ruminant Research**, [S.l.], v. 111, p. 50-55, 2013. ISSN 0921-4488.

OKURA, M. H.; RENDE, J. C. **Microbiologia: roteiros de aulas práticas**. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2008. ISBN 978-85-99276-26-6.

OROSZ, S. E. Critical care nutrition for exotic animals. **Journal of Exotic Pet Medicine**, [S.l.], v. 22, p. 163-177, 2013. ISSN 1557-5063.

PAIVA, M. P. **Nordeste do brasil: terra, mar e gente**. São Paulo: ÔTE, 2010. ISBN 978-85-62446-02-3.

PASIECZNIK, N. M.; HARRIS, P. J. C.; SMITH, S. J. **Identifying tropical prosopis species: a field guide**. Coventry: HDRA Publishing, 2003. ISBN 0-905343-34-4.

PELCZAR JR., M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. Tradução de Sueli Fumie Yamada, Tania Ueda Nakamura e Benedito Pardo Dias Filho. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2. ed. São Paulo: Pearson Makron Books, 1997. ISBN 978-85-346-0196-2.

PEREIRA, F. C. et al. (Org.). **Manejo de plantas xerófilas no semiárido**. Campina Grande: Editora da Universidade Federal de Campina Grande, 2013. ISBN 978-85-8001-086-2.

PEREIRA, I. M. et al. Regeneração natural em um remanescente de caatinga sob diferentes níveis de perturbação, no Agreste Paraibano. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v.15, n. 3, p. 413-426, 2001. ISSN 0102-3306.

PERRY, T. W. **Animal life-cycle feeding and nutrition: animal feeding and nutrition**. Orlando: Academic Press Inc., 1983. ISBN 0-12-552060-3.

QUEIROZ, J. S.; GUTIERREZ-ALEMAN, N.; LEÓN, F. A. P. The ecology and management of small ruminant production systems in the Sertao of Ceara, in the Northeast of Brazil. **Agricultural Systems**, [S.l.], v. 22, p. 259-287, 1986. ISSN 0308-521X.

- RABÊLO, T. C. B. **Enriquecimento protéico da Algaroba (*Prosopis juliflora*) utilizando *Saccharomyces cerevisiae***. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2011.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. ISBN 978-85-277-1229-3.
- REDDY, A. J. Agroclimatic classification of the semi-arid tropics: i. a method for the computation of classificatory variables. **Agricultural Meteorology**, [S.l.], v. 30, p. 185-200, 1983. ISSN 0002-1571.
- SALVI, M. B. **Otimização de biorremediação de solo contaminado com organoclorados utilizando basidiomicetos em biorreatores**. 2013. Tese (Doutorado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) – Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente de São Paulo, São Paulo, 2013.
- SAMSON, R. A. et al. (Eds.), **Introduction to food and airborne fungi**. 6th ed. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2001. ISBN 978-90-703-5142-7.
- SÁNCHEZ-MUROS, M.; BARROSO, F. G.; MANZANO-AGUGLIARO, F. Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. **Journal of Cleaner Production**, [S.l.], p. 1-12, 2013. ISSN 0959-6526. No prelo.
- SANTOS, S. F. M. **Estudo da produção de pectinases por fermentação em estado sólido utilizando pedúnculo de caju como substrato**. 2013. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2007.
- SATO, T. Beyond water-intensive agriculture: expansion of *Prosopis juliflora* and its growing economic use in Tamil Nadu, India. **Land Use Policy**, [S.l.], v. 35, p. 283-292, 2013. ISSN 0264-8377.
- SCHMIDELL, W. et al. (Coord.). **Biotecnologia industrial: engenharia bioquímica**. São Paulo: Blucher, 2001.v. 2. ISBN 978-85-212-0279-0.
- SHIFERAW, H. et al. Some biological characteristics that foster the invasion of *Prosopis juliflora* (sw.) dc. at middle awash rift valley area, North-eastern Ethiopia. **Journal of Arid Environments**, [S.l.], v. 58, p. 135-154, 2004. ISSN 0140-1963.
- SPERLING, M. V. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 2. ed. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 1996. ISBN 85-7041-114-6.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Tradução Roberta Marchiori Martins. **Microbiologia**. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. ISBN 978-85-363-0488-5.
- TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. (Ed.). **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. ISBN 978-85-7379-981-1.
- TSUKAHARA, T.; USHIDA, K. Effects of animal or plant protein diets on cecal fermentation in guinea pigs (*Cavia porcellus*), rats (*Rattus norvegicus*) and chicks (*Gallus gallus domesticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, [S.l.], v. 127, p. 139-146, 2000. ISSN 1095-6433.

VASTA, V. et al. Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, [S.l.], v. 147, p. 223-246, 2008. ISSN 0377-8401.

VICCINI, G. **Otimização da produção de esporos do fungo *Clonostachys rósea*: um biopesticida para a cultura do morangueiro**. 2004. Dissertação (Mestrado em Ciências – Bioquímica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

WU, F. Measuring the economic impacts of fusarium toxins in animal feeds. **Animal Feed Science and Technology**, [S.l.], v. 137, p. 363-374, 2007. ISSN 0377-8401.

\_\_\_\_\_. Mycotoxin risk assessment for the purpose of setting international regulatory standards. **Environmental Science & Technology**, [S.l.], v. 38, n. 15, p. 4049-4055, 2004. ISSN 0013-936X.

ZAIA, D. A. M.; ZAIA, C. T. B. V.; Lichtig, j. Determinação de proteínas totais via espectrofotometria: vantagens e desvantagens dos métodos existentes. **Química nova**, São Paulo, v. 21, n. 6, p. 787-793, 1998. ISSN 1678-7064.