



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE – UFCG
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE – CES
UNIDADE ACADÊMICA DE BIOLOGIA E QUÍMICA- UABQ

ANTONIO DANIEL BURITI DE MACEDO

**ENRIQUECIMENTO PROTEICO DA PALMA FORRAGEIRA E DO
SISAL POR FERMENTAÇÃO SEMISSÓLIDA**

CUITÉ – PB

2016

UFCG/BIBLIOTECA

ANTONIO DANIEL BURITI DE MACEDO

**ENRIQUECIMENTO PROTEICO DA PALMA FORRAGEIRA E DO
SISAL POR FERMENTAÇÃO SEMISSÓLIDA**

Monografia apresentada ao Curso de
Licenciatura em Química da Universidade
Federal de Campina Grande, como um dos
pré-requisitos para obtenção do título de
Licenciado em Química.

Orientadores: Prof^a. Dr^a. Ana Regina Nascimento Campos

Prof. Dr. José Carlos de Freitas Paula

CUITÉ – PB

2016

UFCG/BIBLIOTECA



Biblioteca Setorial do CES.

Julho de 2021.

Cuité - PB

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

M141e Macedo, Antonio Daniel Buriti de.

Enriquecimento proteico da palma forrageira e do sisal por fermentação semissólida. / Antonio Daniel Buriti de Macedo. – Cuité: CES, 2016.

62 fl.

Monografia (Curso de Licenciatura em Química) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2016.

Orientadora: Dra. Ana Regina Nascimento Campos.
Coorientador: Dr. José Carlos de Freitas Paula.

1. Forragem. 2. *Opuntia ficus indica mill.* 3. Levedura e aumento proteico. I. Título.

Biblioteca do CES

CDU 631

ANTONIO DANIEL BURITI DE MACEDO

**ENRIQUECIMENTO PROTEICO DA PALMA FORRAGEIRA E DO
SISAL POR FERMENTAÇÃO SEMISSÓLIDA**

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Química da Universidade Federal de Campina Grande, como um dos pré-requisitos para obtenção do título de Licenciado em Química.

BANCA EXAMINADORA

Prof.ª Dr.ª Ana Regina Nascimento Campos
Orientadora
UFCG/CES/UABQ

Prof. Dr. José Carlos de Freiras Paula
Coorientador
UFCG/CES/UABQ

Prof. Dr. Renato Alexandre Costa de Santana
Examinadora
UFCG/CES/UABQ

Mislene Pereira Lins

MSc. Mislene Pereira Lins
Examinadora
UFCG/CES/UABQ

UFCG/BIBLIOTEC

Aos meus pais, Manoel Ferreira
e Josefa do Carmo e a meu
filho, Luis Antonio.

UFCG/BIBLIOTECA

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela graça dessa conquista, pois sei que sem ele não conseguiria e a Nossa Senhora por sua interseção e proteção.

Aos meus pais Manuel Ferreira e Josefa do Carmo, por estar comigo todos os momentos, me apoiando e incentivando, sem eles ao meu lado tudo ficaria difícil.

As minhas irmãs, Danielly Buriti e Macielly Buriti, pelo apoio sempre que precisei e pelo carinho.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Ana Regina Nascimento Campos, agradeço por todo apoio, dedicação, orientação, amizade e confiança, foi muito importante para minha formação.

Ao Prof. Dr. Renato Alexandre Costa de Santana, coordenador do laboratório de eletroquímica e corrosão (LEC).

Ao Professor José Carlos de Freitas Paula, por seu incentivo, amizade e orientação durante todo o tempo que participei do Programa de Educação Tutorial, foi muito importante para o meu crescimento pessoal e profissional.

A todos os professores que contribuíram com a minha formação, pelos ensinamentos e amizades.

A todos os meus colegas do LBBA, PET e LEC pela amizade, apoio e carinho. Em especial a José Eudes Santos e Ana Paula Sousa pelo incentivo, contribuição, dedicação e carinho.

A toda minha família, meus avós e tios, que tanto me incentivaram e apoiaram durante esse tempo.

Ao Laboratório de Bioquímica e Biotecnologia de Alimentos – LBBA.

Ao Programa de Educação Tutorial – PET

Ao Laboratório de Eletroquímica e corrosão – LEC.

Ao Laboratório de Pesquisa e Ensino de Química – LaPeQ

A todos os meus amigos que participaram de forma direta ou indireta dessa etapa da minha vida,

MUITO OBRIGADO!

UFCG/BIBLIOTECA

“Pouco conhecimento faz com que as pessoas se sintam orgulhosas. Muito conhecimento, que se sintam humildes. É assim que as espigas sem grãos erguem desdenhosamente a cabeça para o Céu, enquanto que as cheias as baixam para a terra, sua mãe”.

Leonardo da Vinci

UFCG/BIBLIOTECA

RESUMO

O desempenho da pecuária na região semiárida do nordeste do Brasil tem sido limitado pela baixa disponibilidade de forragens, principalmente nos períodos de estiagem prolongada, além de manejo inadequado dos animais, da má utilização dos recursos forrageiros existentes na região e os altos custos das rações comerciais. Sendo assim, a palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) e o sisal (*Agave sisalana* Perrine) são alternativas viáveis encontradas a serem utilizadas em qualquer época do ano, até mesmo nos períodos de estiagem. Essas forragens são caracterizadas por apresentarem baixos teores proteicos quando comparadas a outras forragens, podendo trazer consequências desfavoráveis ao rebanho, quando se faz o uso exclusivo, sendo recomendado fornecê-las sempre associadas a um suplemento proteico na dieta animal. O objetivo deste trabalho foi estudar o processo de enriquecimento proteico da palma e do sisal por fermentação semissólida, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, visando à produção de um suplemento proteico para ração animal avaliando a concentração inicial de leveduras e concentração de sisal sobre o teor proteico, aplicando-se o planejamento experimental e a metodologia de superfície de resposta. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Bioquímica e Biotecnologia de Alimentos (UFCG/CES). A coleta dos materiais foi realizada no sítio Bom Sucesso, Sossego/PB. As raquetes de palma foram coletadas de acordo com a colheita feita tradicionalmente na região, coletando aquelas que apresentavam bom estado fitossanitário. Do sisal foram retiradas as folhas e coletado o pseudocaule da planta, parte interna do bulbo central. Em seguida, esses materiais foram levados ao laboratório para serem processados, resultando em uma mucilagem. As fermentações semissólidas (FSS) ocorreram em sistema de batelada, utilizando-se biorreatores retangulares de plástico. Os biorreatores foram dispostos em estufa de circulação de ar forçado, a 35 °C, durante 72 horas. Avaliaram-se as diferentes concentrações iniciais de levedura (1, 3 e 5 %) e concentração de sisal (0, 50 e 100 %) em relação a massa do substrato. Fez-se uma avaliação das variáveis estudadas e observou-se que, com confiança de 95 %, e um R^2 de 0,94, o maior aumento proteico (135,73%), foi obtido com a adição de 5% de levedura e concentração de 100% de sisal, após 24 horas de fermentação.

Palavras-chave: Forragem, *Opuntia ficus indica* Mill, *Agave sisalana* Perrine, Levedura e Aumento Proteico.

ABSTRACT

The performance of livestock in the semiarid region of northeastern Brazil has been limited by the low availability of fodder, especially during periods of prolonged drought, and inadequate animal management, poor use of existing forage resources in the region and the high costs of commercial pet food. Thus, the spineless cactus (*Opuntia ficus indica* Mill) and sisal (*Agave sisalana* Perrine) are viable alternatives found to be used at any time of year, even during the dry season. These forages are characterized by presenting low protein levels when compared to other forages, may bring negative consequences to the herd when it is the exclusive use and is recommended to provide them always associated with a protein supplement in animal diet. The objective of this work was to study the protein enrichment process of the cactus pear and sisal for semisolid fermentation using the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, in order to produce a protein supplement for animal feed evaluating the initial concentration of yeast and concentration of sisal on the content protein, applying the experimental design and the response surface methodology. The experiments were conducted at the Laboratory of Biochemistry and Biotechnology (UFCG/ CES). The collection of materials was held at the site Bom Sucesso, Sossego/PB. Palm racquets were collected according to the harvest traditionally made in the region, collecting those that had plant health. Sisal leaves were removed and collected from the pseudostem plant, inside the central bulge. Next, these materials were taken to the laboratory to be processed, resulting in a mucilage. The semisolid fermentation (SSF) were batch system, using bioreactors rectangular plastic. The bioreactors were placed in circulation forced air oven at 35 °C for 72 hours. We evaluated the different initial concentrations of yeast (1, 3 and 5%) and sisal concentration (0, 50 and 100%) compared to bulk substrate. There was an evaluation of the variables studied and it was observed that, with confidence level of 95% and an R^2 of 0.94, higher protein increase (135.73%) was obtained with addition of 5% yeast and concentration of 100% sisal, after 24 hours of fermentation.

Keywords: Forage, *Opuntia ficus indica* Mill, *Agave sisalana* Perrine, Yeast and Protein Increase.

LISTA DE FIGURA

Figura 1. Palma forrageira (<i>Opuntia ficus indica</i> Mill).....	16
Figura 2. Sisal (<i>Agave sisalana</i> Perrine).	19
Figura 3. Levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> vista do meV com ampliação de 3000 vezes	27
Figura 4. Substratos utilizados na fermentação. A. Sisal. B. Palma forrageira. C. Palma e sisal	30
Figura 5. Fermento biológico utilizado como micro-organismo na fermentação	31
Figura 6. Estufa utilizada para determinação do teor de água das amostras	32
Figura 7. Peagâmetro utilizado na determinação do pH das amostras	33
Figura 8. Refratômetro utilizado na determinação do °Brix das amostras.....	34
Figura 9. Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X	34
Figura 10. Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 1	46
Figura 11. Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 2	46
Figura 12. Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 3	47
Figura 13. Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 4	47
Figura 14. Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 5	48
Figura 15. Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 6	48
Figura 16. Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 7	49
Figura 17. Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 8	49
Figura 18. Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 9	50
Figura 19. Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 10	50
Figura 20. Gráfico de Pareto para o aumento proteico da palma e do sisal, com 95% de confiança.....	53
Figura 21. Superfície de resposta das variáveis estudadas para a resposta AP	54

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Composição bromatológica das três variedades de palma forrageira.....	17
Tabela 2. Composição bromatológica dos componentes da planta e dos coprodutos do desfibramento do sisal (CDS).....	21
Tabela 3. Matriz do planejamento fatorial $3^2 + 1$	36
Tabela 4. Valores reais e codificados das variáveis do planejamento fatorial $3^2 + 1$	36
Tabela 5. Caracterização química da levedura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) empregada no processo de enriquecimento proteico	38
Tabela 6. Caracterização química da palma (<i>Opuntia ficus indica</i>) e do sisal (<i>Agave sisalana</i>) <i>in natura</i>	39
Tabela 7. Constituintes minerais da palma e do sisal <i>in natura</i>	41
Tabela 8. Valores do teor de água durante o processo de fermentação semissólida	42
Tabela 9. Valores de pH durante o processo de fermentação semissólida	43
Tabela 10. Percentual de proteína bruta dos substratos durante o processo de FSS dos experimentos.....	44
Tabela 11. Percentual do aumento proteico dos substratos durante o processo de FSS dos experimentos.....	45
Tabela 12. Resultados das respostas para o aumento proteico da palma forrageira associada ao sisal	51
Tabela 13. Resultados da ANOVA para o Aumento Proteico (AP).....	52

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 PALMA FORRAGEIRA	16
3.2 SISAL	18
3.3 FERMENTAÇÃO SEMISSÓLIDA (FSS).....	21
3.3.1 Parâmetros do processo	22
4. METODOLOGIA.....	29
4.1 SUBSTRATO	29
4.2 BIORREATOR.....	30
4.3 FERMENTAÇÃO	30
4.4 MICRO-ORGANISMOS	31
4.5 ANÁLISES QUÍMICAS	31
4.5.1 Teor de água (TA)	31
4.5.2 pH	32
4.5.3 Acidez titulável (AT).....	33
4.5.4 Sólidos solúveis totais (SST).....	33
4.5.5 Determinação e quantificação de minerais.....	34
4.5.6 Proteína bruta (PB).....	35
4.5.7 Aumento Proteico (AP)	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA LEVEDURA UTILIZADA NO PROCESSO DE ENRIQUECIMENTO PROTEICO.....	38
5.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS SUBSTRATOS ANTES DO PROCESSO DE ENRIQUECIMENTO PROTEICO.....	38
5.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS SUBSTRATOS DURANTE O PROCESSO DE ENRIQUECIMENTO PROTEICO.....	42

5.3.1 Teor de água (TA)	42
5.3.2 pH	43
5.3.3 Proteína Bruta (PB)	44
5.3.4 Aumento Proteico (AP)	45
5.4 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	51
6. CONCLUSÕES.....	55
7. REFERÊNCIAS	56

1. INTRODUÇÃO

O desempenho da pecuária na região semiárida do nordeste do Brasil tem sido limitado pela baixa disponibilidade de forragens, principalmente nos períodos de estiagem prolongada, além de manejo inadequado dos animais, da má utilização dos recursos forrageiros existentes na região e os altos custos das rações comerciais. Tais limitações têm levado os pecuaristas a buscarem alternativas de alimentação para os animais, que seja de fácil aquisição e de baixo custo. A palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) e o sisal (*Agave sisalana* Perrine) são uma das alternativas viáveis encontradas pelos criadores como fonte de alimento básico para os seus rebanhos, pois podem ser utilizados em qualquer época do ano, inclusive nos períodos de estiagem (ARAÚJO *et al.*, 2009).

A palma se apresenta como recurso alimentar de extrema importância, pois é adaptada às condições edafoclimáticas da região, e tem sido frequentemente utilizada na alimentação animal, principalmente nos períodos de estiagem prolongada. Apresenta composição química variável de acordo com a espécie, idade, época do ano e tratamentos culturais. É um alimento rico em carboidratos, sobretudo, carboidratos não fibrosos, apresenta altas produções de matéria seca por unidade de área, embora possua baixos teores de fibra em detergente neutro e proteína bruta (PB). Possuem ainda alto teor de resíduo mineral e água, aspectos que devem ser levados em consideração quando for utilizada na alimentação de bovinos (FERREIRA; PESSOA; BISPO, 2011).

O sisal é uma planta resistente à aridez e ao sol intenso do sertão nordestino. No Brasil, as principais regiões produtoras são os estados da Bahia e da Paraíba. Os resíduos do sisal (bagaço e/ou polpa) são bastante utilizados na alimentação dos rebanhos durante os períodos de escassez de pastagens. No entanto, Silva e Beltrão (1999) salientam o seu baixo valor nutricional, pois apresenta um alto teor de lignina e baixo percentual de PB.

O aproveitamento de alimentos não convencionais tem sido uma alternativa bastante explorada em tempos de escassez de alimento, estimulando o homem do campo a aproveitar e explorar a própria vegetação da região. Esses alimentos, em sua maioria, são carentes em teores nutricionais, sendo necessário o fornecimento associado a suplementos proteicos comerciais, como torta e farelos, o que encarece o processo. No entanto, alguns micro-organismos, como as algas, leveduras e fungos são considerados

uma fonte de proteína unicelular, podendo ser utilizado na alimentação animal, substituindo os suplementos proteicos comerciais (ARAÚJO *et al.*, 2005).

O processo de enriquecimento proteico utilizando micro-organismos pode ser realizado através de fermentação semissólida (FSS). A FSS apresenta diversas vantagens quando comparada ao processo de fermentação submersa (FSm) devido a seus aspectos físico-químicos, especialmente sua reduzida atividade de água (a_w), o que torna o processo mais produtivo, além de requerer baixo investimento de capital e energia e, praticamente não produzir resíduos.

Diversos estudos vêm sendo realizados com o objetivo de enriquecer proteicamente diferentes substratos através da FSS utilizando a *Saccharomyces cerevisiae*: resíduos de casca e coroa de abacaxi pérola (OLIVEIRA; CAMPOS; SILVA, 2006; OLIVEIRA, 2007), palma forrageira (CAMPOS, 2008), mandacaru sem espinhos (ARAÚJO *et al.*, 2009), bagaço do pseudofruto do caju (SANTOS *et al.*, 2010), cladódios de facheiro (OLIVEIRA, 2014; SILVA, 2015), palma forrageira e sisal (MACEDO *et al.*, 2015a) e xiquexique (SILVA, 2015).

Diante da necessidade dos criadores em suplementar proteicamente a palma e o sisal, o estudo do enriquecimento proteico dessas forragens de maneira que possa ser viável sua aplicação no campo, torna-se uma alternativa viável e de baixo custo. Dessa forma, o criador poderá enriquecer proteicamente a forragem de que dispõe em sua propriedade, diminuindo os custos com a suplementação proteica da alimentação dos animais, uma vez que não haveria despesas com aquisição, transporte e estocagem de concentrados proteicos comerciais.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar o processo de enriquecimento proteico da palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) e do sisal (*Agave sisalana* Perrine) por fermentação semissólida, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, visando à produção de um suplemento proteico para ração animal.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Caracterizar quimicamente a levedura (*S. cerevisiae*) utilizada no processo fermentativo;
- ✓ Caracterizar quimicamente os substratos (palma forrageira e sisal), antes, durante e após o processo de enriquecimento proteico;
- ✓ Estudar a cinética do aumento proteico dos substratos, para verificar o tempo de fermentação em que se obtém o maior aumento proteico;
- ✓ Empregar um planejamento experimental associado à metodologia de superfície de resposta para verificar os efeitos das variáveis de entrada (concentração de sisal e concentração de levedura) sobre o teor proteico.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Palma Forrageira

A palma forrageira (Figura 1) é uma cactácea, de origem mexicana, plantada pela primeira vez no Brasil no final do século XVIII, no estado de Pernambuco, através de raquetes originárias do Texas/EUA (SIMÕES *et al.*, 2005), utilizada apenas para a criação da cochonilha, produtora do corante carmim. Sua produção ampliou-se, sendo hoje bastante comum à paisagem árida e semiárida do nordeste brasileiro (DATA AMÉRICA, 2004). No entanto, apenas no início do século XX passou-se a ser cultivada e utilizada como forragem (TEIXEIRA *et al.*, 1999).

A palma pertencente à divisão Embryophyta, subdivisão Angiospermeae, classe Dicotyledoneae, ordem Opuntiales, Família Cactaceae, gênero *Opuntia* e espécie *Opuntia ficus indica* Mill. Essa família é composta por 178 gêneros com aproximadamente 2.000 espécies. As principais variedades de palma cultivada no nordeste são: gigante (*O. ficus indica*), redonda (*Opuntia sp.*) e a miúda (*Nopalea cochenilifera*) (SILVA e SANTOS, 2006).

Figura 1. Palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill)



Fonte: Dados da pesquisa.

A palma gigante, como o próprio nome diz, apresenta porte maior que as outras variedades, favorecendo a produtividade, e são mais resistentes à secas prolongadas.

A palma redonda (*Opuntia sp.*) tem tamanho médio, apresentando caules bem ramificados e raquetes arredondadas (SILVA e SANTOS, 2006).

A palma miúda (*N. cochenilifera*) é uma variedade resistente à cochonilha do carmim, praga que vem colocando em risco a produtividade da cultura, apresenta maior valor nutritivo e maior teor de rendimento de matéria seca dentre as cactáceas cultivadas no nordeste. No entanto, é menos resistente a secas e a cochonilha de escamas, sendo mais indicada para o agreste (CAMPOS, 2008).

A composição química da palma depende de diversos fatores, tais como, a espécie, idade, período do ano em que foi feita a colheita e do manejo das plantas (FERREIRA *et al.*, 2003).

A Tabela 1 apresenta a composição química de três variedades da palma: gigante, miúda e redonda.

Tabela 1. Composição bromatológica das três variedades de palma forrageira

	Palma Forrageira		
	Gigante	Miúda	Redonda
	%		
Matéria seca	8,82	13,06	10,93
Matéria orgânica	89,79	93,00	88,71
Proteína bruta	5,02	3,34	5,14
Extrato etéreo	1,98	1,71	1,78
Matéria mineral	10,21	7,00	11,29
Fibra bruta	12,32	7,17	8,72
Extrato não nitrogenado	70,31	77,97	72,77
Carboidratos	81,88	86,57	81,16
Fibra em detergente neutro	27,69	16,60	-
Fibra em detergente ácido	17,93	13,66	-
Carboidratos não fibrosos	55,63	71,17	-

Fonte: Adaptada de VALADARES FILHO *et al.*, 2006.

O Brasil compreende a maior área plantada com palma do mundo, com uma área de cultivo superior a 500 mil hectares (MOURA *et al.*, 2011), sendo o nordeste o principal produtor. A variedade mais cultivada é a palma gigante, no entanto, se comparado com outros países apresenta uma baixa produtividade, cerca de 40 toneladas

por hectares (MARCONATO, 2008). Fatores como fertilidade do solo, pluviosidade, controle de ervas daninha, seleção das mudas, ataque de pragas e doenças e densidade do plantio podem influenciar na produtividade (FERREIRA *et al.*, 2003). Para um bom desenvolvimento, a palma exige do solo características físico-químicas específicas como fertilidade, áreas com solo arenoso a argiloso e que tenha uma boa drenagem, já que a mesma não suporta solos encharcados (GALVÃO JÚNIOR *et al.*, 2014).

A palma mostra-se ser uma boa alternativa para os criadores de bovinos, ovinos e caprinos das regiões áridas e semiáridas do nordeste brasileiro, tendo em vista, que a palma apresenta características fisiológicas particulares como absorção, aproveitamento e perda de água, sendo adaptada às condições adversas da região, tolerando grandes períodos de secas (SILVA e SANTOS, 2006). A palma desempenha um importante papel na dieta dos ruminantes no período de escassez de pastagens, pois proporciona elevado teor de água e minerais, além de boa digestibilidade, porém apresenta baixo teor de proteína bruta, matéria seca e fibra em detergente neutro (SILVA, 2012). Por proporcionar baixo valor nutritivo e de fibras, estudos recomendam fornecer a palma na dieta animal sempre associada a um suplemento proteico, dispondo-a com até 50 % da dieta (SILVA e SANTOS, 2006).

Uma característica importante da palma é apresentar um alto teor de água, pois no período da estiagem atende as necessidades de água dos animais, principalmente, em regiões semiáridas (SANTOS *et al.*, 2001).

Segundo Nunes (2011), a palma é uma fonte alternativa para a alimentação humana, pois é capaz de combater a desnutrição em regiões semiáridas e, auxiliar nos tratamentos de saúde por ser rica em vitaminas A, complexo B e C, além de minerais como o cálcio, magnésio, sódio e potássio. Também são encontrados 17 aminoácidos, destes 8 são essenciais. Apesar do preconceito a respeito da palma, ela é bastante nutritiva, comparada com outros alimentos como a banana, a couve e a beterraba, torna-se um produto vantajoso por ser mais econômico.

3.2 Sisal

O sisal (Figura 2), originário do México, é utilizado principalmente para a produção de fibras, estrutura extraída das folhas, empregada na indústria de cordoalha. Até a Primeira Guerra Mundial, o México era detentor exclusivo do mercado de fibras.

Apenas nos anos de 1830, o sisal foi levado para a Flórida e, em seguida, para a África Oriental. No entanto, em 1903 as primeiras mudas foram trazidas para o Brasil e, a partir da década de 30, os primeiros plantios começaram a aparecer através de campos de experimentação e produção de mudas (CAMPBELL, 2007).

O sisal é um vegetal adaptado ao clima de regiões áridas e semiáridas. Pertence à classe Monocotyledoneae, família Agavaceae, subfamília Agavoideae, gênero *Agave*, espécie *Agave Sisalana* Perrine (ANDRADE JÚNIOR, 2006).

A planta de sisal atinge, em média, 1,2 m de altura, e é formada por um tronco (pseudocaule), que dá origem e sustentação às folhas e por um broto terminal. É coberto por uma casca dura de, aproximadamente, 3 mm de espessura e seu interior é composto por tecido de consistência dura e na parte média superior do caule, encontram-se tecidos menos fibrosos, de coloração esbranquiçada. As folhas do sisal tem forma linear pontiaguda, rígida, de cor verde escuro e comprimento que pode passar de 1,2 m, largura entre 10 e 15 cm na sua parte média, possuindo um único espinho na extremidade e no seu interior estão localizadas as fibras. No final do ciclo produtivo, a planta produz folhas curtas e finas até que ocorra a inflorescência e brote em pedúnculo floral que pode atingir até 8 m de altura. Por se tratar de uma planta monocárpica, floresce uma só vez durante o ciclo vegetativo, morrendo posteriormente (SILVA *et al.*, 2008)

Figura 2. Sisal (*Agave sisalana* Perrine).



Fonte: Dados da pesquisa.

O cultivo nacional de sisal ocorre exclusivamente, na região nordeste, sendo os principais estados produtores a Bahia, Paraíba e Rio Grande do Norte, com produção de

93,5; 3,5 e 3,0 %, respectivamente (MARTIN *et al.*, 2009). Por ser uma cultura resistente ao clima adverso da região, caracterizado principalmente por longos períodos de secas, o sisal tornou-se uma alternativa para os pequenos agricultores por ser uma fonte de emprego e renda nos períodos que não é possível trabalhar com outras culturas como, por exemplo, o milho e o feijão, os mais tradicionais (ANDRADE JÚNIOR, 2006).

Na Paraíba, já existe uma preocupação quanto à cultura do sisal, pois esta vem perdendo espaço e a produção vem caindo consideravelmente, causada principalmente pela baixa rentabilidade, má conservação dos campos existente e pela falta de investimentos em novos campos. Segundo a Secretaria de Ciência Tecnologia e Inovação - SECTI, a Paraíba, no período de 1943 a 1976, era o maior produtor e exportador do Brasil, no entanto, hoje produz apenas 3,5 % do total produzido no país (SECTI, 2015).

Na região do curimataú paraibano é comum em tempos de secas severas, onde as forragens são limitadas, o uso do sisal na alimentação dos animais. Utiliza-se o pseudocaule de onde são retiradas todas as folhas, verdes e secas, restando apenas a parte branca do pseudocaule, este é cortado ou moído em máquina forrageira e ofertado aos animais, já o bagaço, coproduto do sisal que fica acumulado ao lado das máquinas de desfibramento é utilizado na forma *in natura* direto no campo, ou até mesmo as folhas que são picadas em finos pedaços e fornecidos aos animais.

Essa prática também é corriqueira em regiões sisaleiras da Bahia, principalmente a utilização do bagaço, composto por uma quantidade significativa de fibras, que quando ingerido em grandes quantidades podem causar a oclusão do rúmen do animal (PEDREIRA e RIGO, 2009).

Segundo Silva e Beltrão (1999), para a utilização do sisal como alimento para os animais é indispensável ter conhecimento da composição química e do valor nutricional do mesmo, pois assim pode-se saber suas deficiências e se há necessidade de se integrar com algum suplemento.

A Tabela 2 apresenta os valores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e matéria mineral (MM) dos componentes da planta e dos coprodutos do desfibramento do sisal (CDS), determinado a partir da massa seca.

Tabela 2. Composição bromatológica dos componentes da planta e dos coprodutos do desfibramento do sisal (CDS)

Tratamento	MS (%)	PB (%)	NIDN (%)	NIDA (%)	MM (%)
Silagem do CDS	11,4	9,5	0,5	0,2	14,7
Feno do CDS	89,7	8,7	0,3	0,2	14,0
CDS amonizado	22,6	22,7	0,2	0,1	17,2
Bulbilho	32,3	10,5	0,0	0,0	4,2
Pó da bateadeira	87,1	5,9	0,2	0,1	12,5
Pseudocaule	25,9	2,7	0,0	0,0	5,4

Fonte: Adaptada de BRANDÃO *et al.*, 2011.

3.3 Fermentação Semissólida (FSS)

Na indústria, os processos fermentativos são empregados para a produção de diversos produtos, tais como bebidas alcoólicas, vinagres, combustíveis, solventes, medicamentos, vitaminas e diversos alimentos. Esse processo também é utilizado no enriquecimento proteico de diversos materiais (resíduos de frutas, farinha, farelos) para serem usados como ração animal. Além disso, algumas indústrias usam os processos fermentativos no tratamento biológico dos seus resíduos, esgotos ou lixos (BORZANI *et al.*, 2001).

O processo de fermentação semissólida (FSS), também conhecido como fermentação em estado sólido, fermentação em substrato sólido ou fermentação em meio semissólido, é uma prática utilizada a milhares de anos para a produção de alimentos. Atualmente, essa técnica vem ganhando espaço e despertando interesse de pesquisadores europeus e americanos, no entanto, na indústria esse processo ainda é pouco utilizado para obtenção de produtos (SCHMIDELL *et al.*, 2001).

A FSS é definida como o bioprocesso que ocorre na ausência ou quase ausência de água livre. No entanto, o substrato deve possuir teor de água suficiente para suportar o crescimento e a atividade metabólica do micro-organismo. O substrato pode ser uma fonte de nutrientes, ou pode ser um material inerte para suportar o crescimento dos micro-organismos (THOMAS; LARROCHE; PANDEY, 2013).

Segundo Schimidell (2001), o principal processo utilizado na indústria brasileira para a geração de produtos biotecnológicos é a fermentação submersa (FSm), sendo quase insignificante o número de empresas que utilizam a FSS para estes fins.

A FSm abrangem uma grande diversidade de processos microbianos, onde a biomassa é completamente rodeada pelo meio de cultura líquido. Segundo Roussos (1997), as principais diferenças entre o FSS e FSm estão relacionados com as várias características físico-químicas, como:

1. A mistura e difusão de substratos e produtos em relação à biomassa é muito menor em FSS;
2. Solubilidade e propagação de oxigênio e outros gases é superior em FSS;
3. O deslocamento de calor é muito menor em FSS;
4. O teor de água é menor em FSS.

Mesmo apresentando algumas vantagens em relação a FSm, a FSS apresenta limitações que impedem seu uso em escala industrial: os tipos de micro-organismo que podem ser usados são limitados, dificuldade de remoção do calor proveniente do metabolismo microbiano, controle na temperatura, dificuldade em medir parâmetros como pH, oxigênio dissolvido, quantidade de água, concentração do substrato no estado sólido e calcular o rendimento do produto (RODRIGUES, 2006).

As principais espécies de micro-organismos utilizados na produção comercial de produtos derivados da FSS são as leveduras, fungos e bactérias, mesmo que nos últimos anos tenha ocorrido desenvolvimento de técnicas de cultura de células de animais e plantas que possibilita a introdução de células mais complexas nos processos de fermentação (WARD, 1993).

3.3.1 Parâmetros do processo

Existem vários fatores importantes que causam enorme impacto sobre o sucesso no desenvolvimento de qualquer bioprocessos e, sendo assim, na FSS não deve ser diferente, portanto, logo devem ser considerados.

Para Pandey (2009), estabelecer as relações entre a fisiologia dos micro-organismos e os fatores físico-químicos é importante para desenvolver modelos adequados para o processo. Algumas variáveis podem influenciar no processo de FSS, incluindo a seleção de micro-organismos adequado para o substrato, o tamanho das partículas dos substratos, a suplementação do meio de crescimento, a esterilização do

meio de FSS, teor de água, a atividade da água (a_w), concentração de inóculo, temperatura, pH, agitação e aeração, tem um efeito significativo sobre a eficiência dos processos FSS.

3.3.1.1 Substrato

A escolha do substrato a ser usado é fundamental para o sucesso do processo fermentativo. Na escolha, devem-se levar em consideração alguns fatores como, o produto que se deseja o método utilizado, a facilidade de se obter determinadas matérias-primas e, se é economicamente viável. Como substrato são empregadas diversas matérias-primas e, dentre estas, diversos tipos de resíduos agroindustriais.

O substrato deve apresentar algumas características que permitam um melhor resultado do processo. A principal peculiaridade é o alto grau de acessibilidade do micro-organismo a todo o meio e, logo a porosidade, tamanho e o formato das partículas são características muito importantes da matéria-prima (SCHMIDELL *et al.*, 2001).

No processo FSS, o substrato sólido fornece os nutrientes necessários para que a cultura microbiana se desenvolva. Os substratos que fornecem todos os nutrientes para os micro-organismos crescerem são considerados como substratos perfeito. No entanto, alguns substratos podem ter deficiências de nutrientes, nesses casos, é necessário um pré-tratamento (química ou mecanicamente) antes da utilização em processos FSS (PANDEY; SOCCOL; MITCHELL, 2000).

3.3.1.2 Teor de água e Atividade de água (a_w)

O teor de água do substrato tem influência direta no sucesso de uma FSS. A água presente no substrato funciona como um filme superficial que facilitar a dissolução e a transferência de nutrientes e de oxigênio. No entanto, entre as partículas devem existir espaços que permitam a propagação de gases e a dissipação de calor, o aumento do teor de água implicará na diminuição desses espaços que irá resultar em uma menor propagação de oxigênio e conseqüente decréscimo de trocas gasosas. Em contrapartida, um baixo teor de água causará dificuldades na propagação dos nutrientes, causando baixo crescimento dos micro-organismos (SCHMIDELL *et al.*, 2001).

Segundo Lonsane *et al.* (1985) e Thiemann (1985), a natureza do substrato, as necessidades do micro-organismo utilizado e o tipo de produto final desejado são os principais fatores que determinam o grau de umidade que o substrato deverá ter no início e ao longo da fermentação.

O teor de água é considerado ótimo no substrato saturado, e varia de 30 a 85% dependendo do substrato. As principais causas da variação do teor de água são a evaporação devido ao calor metabólico e hidrólise do substrato, e produção de água metabólica (DORTA *et al.*, 1994).

As necessidades de água do micro-organismo podem ser determinadas em termos de a_w em vez de teor de água no substrato. A a_w é definida como a relação entre a pressão do vapor de água em um sistema, e a pressão do vapor da água pura. Logo, a_w indica a água disponível para o crescimento do micro-organismo, e está diretamente ligada com o desenvolvimento da biomassa, das reações metabólicas, e dos processos de transferência de massa (MARTINS *et al.*, 2011).

Segundo Robinson e Nigam (2003), as bactérias suportam valores de a_w de até 0,75, as leveduras toleram valores de 0,62 a 0,64 e os fungos filamentosos crescem rapidamente em meios relativamente secos, com a_w inferior a 0,85 e até 0,61. No entanto, segundo Bhargav *et al.* (2008), os fungos são incapazes de crescer em a_w inferior a 0,97. Sendo assim, o crescimento de fungos e sua produção de metabólitos secundários durante FSS são fortemente afetadas pela a_w do substrato.

Segundo Sato *et al.* (1982), normalmente, em estudos de laboratório, a a_w é controlada colocando-se o biorreator em uma câmara de cultura, cujo teor de água é fixado através de soluções salinas saturadas. Em maior escala, o biorreator é arejado com água-ar saturada.

3.3.1.3 pH

Outro parâmetro importante a ser considerado em um processo fermentativo é o pH, pois tem influência direta no crescimento e desenvolvimento de micro-organismos, uma vez que cada espécie de micro-organismo tem um valor ótimo de pH no qual deverá ser cultivado.

As variações no pH são resultados do consumo do substrato (por exemplo, hidrólise proteica) e/ou produção de metabólitos (por exemplo, ácidos orgânicos). Ele é o indicador das mudanças das atividades metabólicas (MAUREL *et al.*, 2003).

Em processos fermentativos, as variações bruscas do pH pode ser amenizada utilizando substratos com boa capacidade tamponante ou a adição de soluções tampão. Geralmente, utiliza-se ácidos orgânicos como agentes tamponantes em meios que apresentem valores de pH baixos. Já para meios que apresenta pH entre 6,0 e 7,5, usa-se fosfato inorgânico adicionado em excesso por causa da sua boa capacidade de tamponamento. O pH também pode ser controlado com a adição de hidróxidos, amônia líquida ou gasosa, e ácidos sulfúrico e clorídrico (WARD, 1993).

No entanto, segundo Schmidell *et al.* (2001) apesar de o pH ser um parâmetro muito importante para o sucesso de uma FSS, o controle deste é um dos mais críticos e dificilmente se conseguirá devido à heterogeneidade e à consistência dos substratos.

Sendo o pH uma variável importante no processo, há valores de pH mínimo, ótimo e máximo para o desenvolvimento de cada micro-organismo. As leveduras industriais apresentam boa adaptação na faixa de pH entre 5,2 e 6,8 (BONASSA *et al.*, 2013). Já para Souza e Monteiro (2011), a faixa de pH no qual as leveduras apresentam boa velocidade de crescimento e formação de produto é um pouco maior, entre 3 e 6. Segundo Lima *et al.* (2013), meios muito ácidos são menos submissos a contaminação bacteriana, resultando em maior rendimento alcoólico, porém quando os valores de pH são muito baixos, ocasionam perda de alguns nutrientes, como nitrogênio e potássio, resultando no aumento da sensibilidade ao etanol e ácidos orgânicos.

3.3.1.4 Temperatura

A temperatura, assim como os demais parâmetros, tem grande influência no crescimento microbiano. Pois, cada micro-organismo tem uma faixa relativamente restrita de temperatura na qual se desenvolve. Temperaturas inapropriadas podem levar à desnaturação de proteínas, inibição enzimática, promoção ou inibição de produção de determinados metabólitos, afetar a produção de esporos e causar morte celular.

Como os demais parâmetros, a temperatura apresenta uma forte influência no crescimento microbiano, havendo uma temperatura mínima abaixo da qual o micro-organismo não cresce, uma temperatura ótima na qual o crescimento é máximo, e uma temperatura máxima acima da qual não ocorre crescimento. Em processos fermentativos, há a necessidade de observar a temperatura para que a mesma não se eleve demais prejudicando o processo (PERAZZO NETO, 1999).

Segundo Schmidell *et al.* (2001) e Nagel *et al.* (2001a), a grande quantidade de calor produzida durante o processo fermentativo, pode estar associada às atividades metabólicas dos micro-organismos e à altura da camada de substrato.

Em escala industrial, a temperatura é normalmente controlada por ar forçado, agitação ou evaporação (DUNAND *et al.*, 1996). Segundo Fernandez *et al.* (1997), o último método é o mais efetivo: a umidade do ar é ajustada de acordo com modelos de troca de água entre sólidos e gases, permitindo dessa forma uma rápida regulagem, dentro de uma faixa de ± 4 °C, sendo a regulagem da temperatura ligada ao controle da umidade da fase sólida. Raimbault e Ramires (1980) afirmam que em condições experimentais, a temperatura do biorreator, normalmente, é controlada com um banho termostático ou através da regulagem da temperatura ambiente.

3.3.1.5 Micro-organismo

Segundo Pandey (1992), tanto micro-organismos em seu estado natural, como na forma de culturas puras individuais ou mistas, podem ser utilizados no processo da FSS.

Muitos micro-organismos tem a capacidade de crescer em substratos sólidos, no entanto, devido ao baixo teor de água no meio, fungos e leveduras são os mais utilizados devido à sua capacidade de crescimento em ambientes com esta característica. No entanto, a escolha do micro-organismo a ser usado em FSS depende do produto final desejado. Os fungos filamentosos têm um grande potencial para a produção de compostos bioativos de FSS, e, portanto, eles são os micro-organismos mais utilizados para esta finalidade (MARTINS *et al.*, 2011).

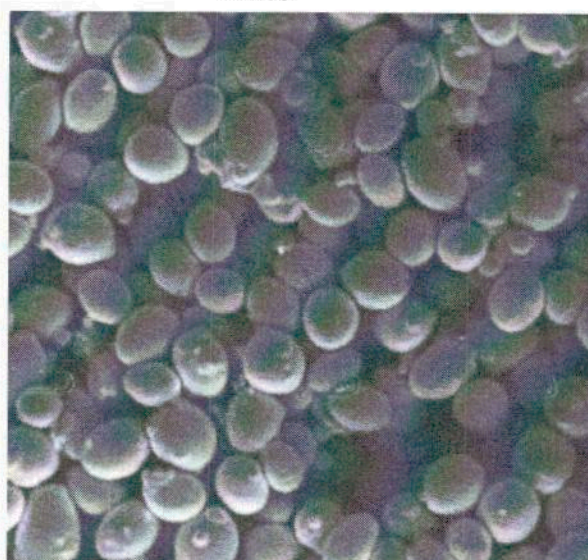
A escolha do tipo de micro-organismo a ser utilizado no processo fermentativo reflete diretamente no resultado do processo. Sendo assim, durante a seleção do micro-organismo, seja ele fungos, leveduras ou bactérias, deve levar em consideração detalhes do processo, como meio de cultura e condições ambientais da fermentação (temperatura e teor de água do sistema), pois a FSS tem se mostrado capaz de realizar vários tipos de transformações.

Dentre os micro-organismos, a levedura vem sendo a mais utilizada por apresentar características como rápida multiplicação, elevado teor nutricional, alta eficiência na absorção dos nutrientes pelo organismo e excelente componente alimentar para os animais (ARAÚJO, 2009). Ainda segundo Araújo (2009), a levedura apresenta componentes que alivia o estresse dos animais gerados por fatores como o desmame,

vacinação e transporte, além de favorecer as rações aspectos mais agradáveis ao paladar dos animais.

As leveduras são microfungos que são encontrados como células individuais e se reproduz por brotamento. Uma característica da crescente população de células de levedura é a presença da gema, produzida quando a célula se divide. A célula filha começa como um pequeno brotamento, que cresce até atingir um tamanho idêntico ao da mãe e em seguida ocorre a separação (WARD, 1993). Esse comportamento pode ser observado na Figura 3.

Figura 3. Levedura *saccharomyces cerevisiae* vista do meV com ampliação de 3000 vezes



Fonte: ALBERTINI; CARMO; PRADO FILHO (2007).

As leveduras são largamente utilizadas na indústria para a obtenção de produtos de consumo diários, entre eles o pão, bebidas alcoólicas e etanol, destacando-se as fermentadas e aquelas posteriormente destiladas. A levedura mais utilizada nos processos industriais é a *Saccharomyces cerevisiae*.

As leveduras, assim como qualquer outra forma de vida necessitam de determinados fatores que favoreçam o seu crescimento. Esses fatores devem estar presente no meio no qual os micro-organismos vão se desenvolver na forma de vitaminas, aminoácidos, nucleotídeos e ácidos graxos. No entanto, seu crescimento será equivalente a quantidades de compostos limitantes, quanto maior a quantidade de nutriente presente no meio maior será o crescimento microbiano (BORZANI *et al.*, 2001).

As leveduras além de sua ampla utilidade na produção industrial de alimentos, bebidas e até farmacêutica, tem um grande potencial como fonte de proteína, sendo possível utilizar sua biomassa na alimentação animal.

3.3.1.6 Biorreator

O biorreator é o “coração” de um processo de fermentação, onde a matéria-prima é convertida no produto desejado. No entanto, o designe e funcionamento dos biorreatores consiste um desafio para o processo de FSS.

Segundo Thomas *et al.* (2013), o substrato é geralmente material natural, tais como resíduo agroindustrial, que oferece nutrientes necessários para a cultura microbiana desenvolver. Sabe-se que para o desenvolvimento de biorreatores e o seu correto funcionamento, são necessárias informações quantitativas sobre a cinética e a estequiometria do processo de reação. Um biorreator no processo de fermentação deve fornecer o ambiente para o crescimento e atividade da cultura microbiana, contudo, a complexidade estrutural e nutricional dos substratos muitas vezes dificulta o desenvolvimento do micro-organismo.

SCHMIDELL *et al.* (2001) cita diversos tipos de reatores que podem ser utilizados nos processos de FSS, tais como, o biorreator de bandeja, tanques circulares, esteira rolante, tubular horizontal, tubular vertical e sacos plásticos. O tipo de biorreator a ser utilizado deve amenizar os problemas de aeração, troca de calor, umidade, entre outros fatores.

4. METODOLOGIA

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Bioquímica e Biotecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde (UFCG/CES).

4.1 Substrato

As matérias-primas utilizadas como substratos para o processo de enriquecimento proteico foram a palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) e o sisal (*Agave sisalana* Perrine), coletadas no período de outubro a dezembro de 2013.

As raquetes de palma forrageira da variedade gigante foram coletadas de acordo com a colheita feita tradicionalmente na região, ou seja, aquelas que apresentavam bom estado fitossanitário, dando-se preferência às raquetes mais novas, localizadas na parte superior da planta, a partir das terciárias.

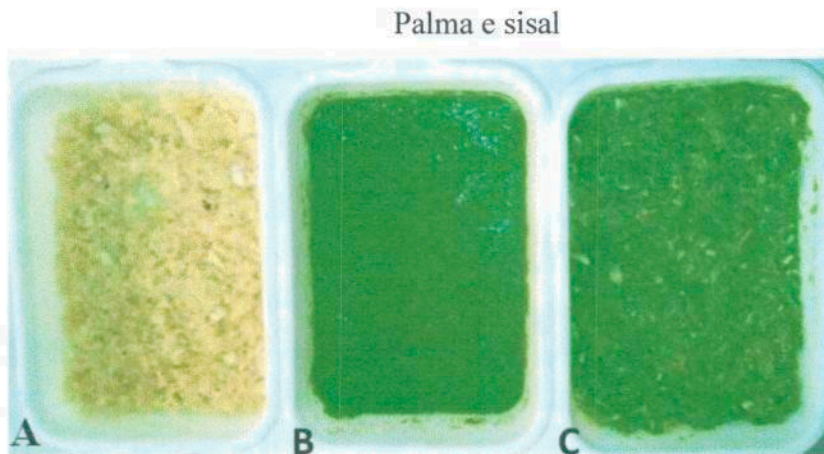
Do sisal foram retiradas as folhas e, então, feito o corte e coleta do pseudocaule da planta, parte interna do bulbo central de onde crescem as folhas. Para esse estudo, foram utilizadas aquelas plantas que iniciavam o processo de emissão do escapo floral, processo que ocorre no final de sua vida produtiva.

A coleta dos materiais foi realizada no sítio Bom Sucesso, localizado a aproximadamente 6 Km da cidade de Sossego, estado da Paraíba. O município de Sossego está incluído na área geográfica de abrangência do semiárido brasileiro, definida pelo Ministério da Integração Nacional. Situa-se na microrregião do curimataú ocidental e é integrante da região metropolitana de Barra de Santa Rosa. Localizado a 227 Km de João Pessoa, possui como coordenadas geográficas: latitude 06° 46' 10" S, longitude 36° 15' 12" O e altitude de 580m (Ministério da Integração Nacional, 2015).

Após a coleta, as matérias-primas foram levadas ao laboratório para serem trituradas individualmente em liquidificador doméstico, o que resultou em massas com aspecto homogêneo, constituindo-se o substrato.

A composição do substrato, ou seja, a quantidade ou concentração de cada matéria-prima a ser utilizada no processo de fermentação seguiu um planejamento experimental que será mostrado a seguir. A Figura 4 apresenta os substratos utilizados, sendo: substrato constituído apenas de sisal (A), substrato constituído apenas de palma forrageira (B) e substrato constituído de palma e sisal (C).

Figura 4. Substratos utilizados na fermentação. A. Sisal. B. Palma forrageira. C.



Fonte: Dados da Pesquisa.

4.2 Biorreator

O biorreator utilizado neste trabalho foi escolhido levando-se em consideração que o objetivo do processo foi o enriquecimento proteico, ou seja, o desenvolvimento de micro-organismos. Utilizou-se biorreatores retangulares de plástico (bandejas), com dimensões de 20 x 30 x 7 cm. Esse tipo de biorreator é um dos tipos indicados para esse propósito, pois oferece uma ampla área superficial entre o substrato e o meio, condição necessária ao bom desenvolvimento dos micro-organismos, além de fácil aquisição e operação.

4.3 Fermentação

A fermentação empregada foi do tipo semissólida em sistema de batelada. O substrato foi adicionado ao biorreator, ocorrendo então à adição do micro-organismo. Em seguida, os biorreatores foram dispostos em estufa de circulação de ar forçado a 35 °C, durante 72 horas.

O valor da temperatura de fermentação adotado foi baseado em estudos que avaliaram a influência da temperatura de fermentação sobre aumento proteico de cactáceas (CAMPOS, 2003; CAMPOS, 2008; SILVA, 2015) Antes e/ou durante a fermentação foram realizadas análises químicas para a determinação do teor de água, pH, acidez titulável, sólidos solúveis totais, determinação e quantificação de minerais e proteína bruta com o seu respectivo aumento proteico.

Antes de cada retirada de amostra, o substrato era homogeneizado com o auxílio de uma colher de plástico, para que as amostras representassem, de melhor maneira possível, todo o meio.

4.4 Micro-organismos

O micro-organismo utilizado para o enriquecimento proteico foi a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, prensada, fermento biológico comercial da marca Fleischmann (Figura 5).

Figura 5. Fermento biológico utilizado como micro-organismo na fermentação



Fonte: Dados da Pesquisa.

A adição da levedura ao substrato foi realizada com o auxílio de uma peneira de plástico, para uma melhor distribuição da mesma, evitando pontos de preferencia, em concentrações definidas no planejamento experimental.

4.5 Análises químicas

4.5.1 Teor de água (TA)

O teor de água (TA) das amostras foi determinado após secagem em estufa de esterilização e secagem da marca FANEM, Modelo 315 SE (Figura 6), a 105° C, até peso constante, de acordo com metodologia descrita em IAL (2008). O TA, expresso em base úmida, foi calculado a partir da Equação 1.

$$TA (\%) = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad (1)$$

Sendo:

TA - Teor de água, b.u (%);

m_i - massa inicial da amostra, g;

m_f - massa da amostra seca, g.

Figura 6. Estufa utilizada para determinação do teor de água das amostras

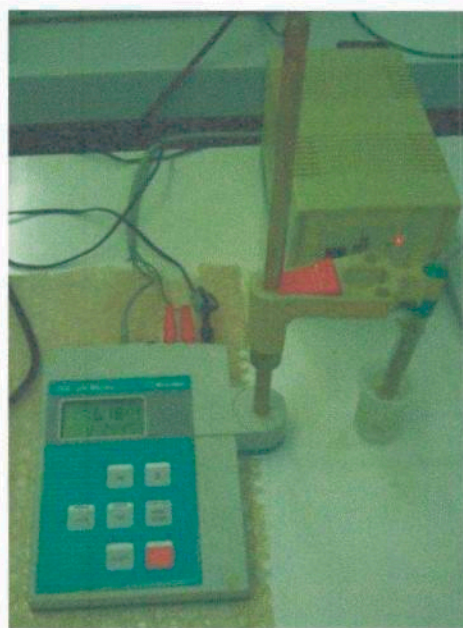


Fonte: Dados da Pesquisa.

4.5.2 pH

Para a determinação do pH foram utilizados 5 g de amostra (em triplicata) que foram transferidos para um béquer, com auxílio de 50 mL de água destilada previamente fervida. O pH foi determinado por medidas potenciométricas do líquido sobrenadante, em peagâmetro da Marca Metrohm 744 pH METER (Figura 7), conforme metodologia descrita em IAL (2008).

Figura 7. Peagâmetro utilizado na determinação do pH das amostras



Fonte: Dados da Pesquisa.

4.5.3 Acidez titulável (AT)

A metodologia seguida foi descrita por IAL (2008) e baseia-se na titulação com hidróxido de sódio até o ponto de viragem com o indicador fenolftaleína.

Foram pesados 5,0g de amostra e adicionado 100 mL de água destilada e, em seguida, adicionado 3 gotas de fenolftaleína 1 %. As amostras foram tituladas com NaOH na concentração de 0,1M, sob agitação constante, até coloração rosada, persistente por 30 segundos.

4.5.4. Sólidos solúveis totais (SST)

Os sólidos solúveis totais (SST) foram determinados através da refratometria na escala °Brix. As leituras do °Brix foram realizadas utilizando o refratômetro de Abbé (PZO WARSZAWA RL1) (Figura 8), corrigido para 20 °C.

Figura 8. Refratômetro utilizado na determinação do °Brix das amostras



Fonte: Dados da Pesquisa.

O aparelho foi calibrado a temperatura ambiente com água deionizada (índice de refração = 1,3330 e 0° Brix a 20°C) de acordo com as instruções do fabricante. Após a calibração, procedeu-se às leituras do °Brix das amostras transferindo de 3 a 4 gotas de amostra homogeneizada para o prisma do refratômetro.

4.5.5 Determinação e quantificação de minerais

Os minerais foram identificados e quantificados por Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva, o equipamento utilizado foi o Shimadzu EDX-720 (Figura 9).

Figura 9. Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X



Fonte: Dados da Pesquisa.

As amostras na forma de pó foram acondicionadas em cubetas cobertas por um filme de polipropileno de 5 µm de espessura e, posteriormente, submetidos ao vácuo. Foram utilizadas as seguintes condições de operação do equipamento: tensão do tubo de 15 KeV (Na a Se) e 50 KeV (Ti a U), com um colimador de 10 mm, e um detector de estado sólidos tipo Si (Li), com resfriamento por nitrogênio líquido. Os resultados do perfil de minerais das amostras foram expressos em %.

4.5.6 Proteína bruta (PB)

O método Kjeldahl (TEDESCO *et al.*, 1995) foi utilizado para determinação de proteína bruta das amostras secas. De acordo com Silva (1998); Souza *et al.* (2000), este método é largamente utilizado em nível mundial e baseia-se na análise de nitrogênio total contido nas amostras, incluindo o nitrogênio proteico propriamente dito e outros compostos nitrogenados como ácido nucleicos, ureia, nitratos etc. A determinação de PB por esse método foi feita por três etapas: digestão, destilação e titulação. O fator de conversão utilizado foi 6,25.

4.5.7 Aumento Proteico (AP)

A determinação do aumento proteico (AP) nas amostras teve como base o valor proteico contido nos substratos *in natura*. O AP foi definido como a razão entre a diferença do valor proteico do substrato enriquecido e o valor proteico do substrato na forma *in natura*, e o valor inicial de proteína bruta na forma *in natura*, conforme Equação 2.

$$AP(\%) = \frac{(\%) \text{ Proteína Bruta}_{(\text{enriquecido})} - (\%) \text{ Proteína Bruta}_{(\text{in natura})}}{(\%) \text{ Proteína Bruta}_{(\text{in natura})}} \times 100 \quad (2)$$

4.6 Planejamento experimental

Com a finalidade de avaliar quantitativamente a influência das variáveis independentes: concentração de sisal e concentração de levedura, sobre o aumento proteico, bem como suas possíveis interações com a realização mínima de

experimentos, foi realizada um planejamento fatorial $3^2 + 1$ experimento no ponto central, totalizando dez experimentos. Os experimentos foram realizados em ordem aleatória, para evitar o erro sistemático, variando-se simultaneamente a concentração de sisal e a concentração de levedura.

A matriz do planejamento fatorial $3^2 + 1$ encontra-se na Tabela 3 e a Tabela 4, mostra as variáveis utilizadas nesse planejamento, suas codificações e os níveis reais para cada variável. Cada variável independente foi investigada para um nível alto (+1), um intermediário (0) e um baixo (-1).

Tabela 3. Matriz do planejamento fatorial $3^2 + 1$

Experimentos	Concentração de levedura (%)	Concentração de sisal (%)
1	-1	-1
2	-1	0
3	-1	+1
4	0	-1
5	0	0
6	0	+1
7	+1	-1
8	+1	0
9	+1	+1
10	0	0

Tabela 4. Valores reais e codificados das variáveis do planejamento fatorial $3^2 + 1$

Variável	-1	0	+1
Concentração de levedura (%)	1	3	5
Concentração de sisal (%)	0	50	100

As concentrações de levedura selecionadas foram 1, 3 e 5% em relação à massa inicial de substrato. Esses valores foram baseados em estudos que verificaram a influência desta variável no processo (CAMPOS, 2008; MACEDO *et al.* 2015a; SILVA, 2015). Uma vez que se pretende um processo fermentativo de enriquecimento proteico de maneira viável ao produtor e com baixo custo, foram escolhidas

concentrações menores de levedura, mas que permitem seu bom desenvolvimento, constituindo assim em um satisfatório aumento proteico.

Com relação à concentração de sisal, escolheram-se valores que permitiam verificar o comportamento individual de cada substrato (palma e sisal) bem como sua mistura. A concentração de sisal utilizada compreendeu a 0, 50 e 100 %, onde 0% significa que o substrato era constituído apenas de palma forrageira, 50% o substrato era constituído em partes iguais de palma e sisal e 100% o substrato era constituído apenas de sisal, de acordo com Macedo *et al.* (2015a) e Macedo *et al.* (2015b).

O software *Statistica 8.0* foi utilizado para geração e avaliação do planejamento experimental fatorial e análise da regressão dos dados experimentais.

5. RESULTADOS E DISCUSÃO

5.1 Caracterização química da levedura utilizada no processo de enriquecimento proteico

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* utilizada neste estudo apresentou o valor médio de teor de água 65,03 %, pH de 5,14, e proteína bruta de 46,51%, conforme apresentado na Tabela 5. Os valores encontrados corroboram com os encontrado por Oliveira (2014), ao estudar o enriquecimento proteico do facheiro por fermentação semissólida com a *S. cerevisiae*, e Campos (2005) quando estudou o enriquecimento proteico do bagaço do pedúnculo de caju por cultivo semissólido também com a *S. cerevisiae*.

Tabela 5. Caracterização química da levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) empregada no processo de enriquecimento proteico

Parâmetros	Média
Teor de água (%)	65,03 ± 0,478
pH	5,14 ± 0,177
Proteína Bruta (%)	46,51 ± 2,173

5.2 Caracterização química dos substratos antes do processo de enriquecimento proteico

A caracterização química das raquetes da palma e do pseudocaule do sisal *in natura* utilizados como substrato no estudo do enriquecimento proteico, é apresentada na Tabela 6.

Tabela 6. Caracterização química da palma (*Opuntia ficus indica*) e do sisal (*Agave sisalana*) *in natura*

	Palma	Sisal
Teor de água (%)	82,51 ± 0,161	70,49 ± 0,236
pH	4,50 ± 0,035	5,39 ± 0,007
Acidez titulável (%)	6,13 ± 0,577	3,60 ± 0,0
SST (°Brix)	3,96 ± 0,057	16,66 ± 0,577
Proteína bruta (%)	6,12	2,19

As amostras de palma apresentaram teor de água (TA) de 82,5 %, resultado semelhante ao encontrado por Campos (2008), no estudo de *scale up* de enriquecimento proteico desta cactácea (81,28 %). Cavalcante e Cândido (2003), Araújo (2004) e Nascimento; Teshima; Silva (2005) encontraram valores de TA para a palma forrageira superiores a 90%, sendo 93,39, 90,70, e 91,59%, respectivamente. Porém, Macedo *et al.* (2015b) em análises da composição química desta forrageira observou um valor de 75,78%, que foi justificado pelo fato da época de coleta da palma utilizada no estudo, que correspondeu ao mês de baixa pluviosidade na região, dezembro.

Com relação ao valor de pH encontrado nas amostras de palma, o valor médio foi de 4,50, corroborando com os estudos de Nascimento; Teshima; Silva (2005) e Campos (2008). Esse pH mostrou ser o ideal para o desenvolvimento da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, pois segundo Chieppe Júnior (2012), pH entre 4,5 e 5,0 é ótimo para o crescimento de leveduras. No entanto, é inferior ao resultado encontrado por Mohamed-yasseen; Barringer; Splittstoesser (1996), que verificaram um pH de 6,2 quando estudaram a composição da *Opuntia sp.* utilizadas na América do Norte/Central.

O valor da acidez titulável da palma foi superior ao encontrado por Nascimento *et al.* (2005) que determinaram valores entre 1,64 e 1,95 % em cladódios de *O. ficus indica*. No entanto, de acordo com Farias (2013), que avaliou a qualidade dos brotos de palma (*Opuntia sp.*) para consumo humano, plantas com esse tipo de metabolismo, podem variar sua acidez, dependendo do desenvolvimento fisiológico e do horário de colheita.

A palma apresentou teor de sólidos solúveis totais (SST) de 3,96 °Brix. Esse valor foi menor do que o resultado encontrado por Farias (2013) de 4,56 % e Pereira *et*

al. (2013) de 7,2 %, ambos em brotos da palma. Essa diferença no teor de SST pode estar relacionada com o teor de água presente no substrato.

Segundo Silva (2015), os SST compreendem varias substâncias, principalmente açúcares, que se encontram dissolvidas em determinado solvente (água no caso dos alimentos). De acordo com Lima (2006), a medida desse parâmetro serve para verificar a viabilidade do processo de fermentação.

Com relação ao teor de proteína bruta (PB) presente na palma e expresso em base seca (b.s.), o resultado encontrado está próximo aos verificados por Campos (2008) de 7,10 e 5,18 % quando avaliaram o percentual de PB em palmas coletas em diferentes períodos do ano, e Nascimento *et al.* (2005) de 5,98 %. Porém, valores menores foram citados por Araújo *et al.* (2008) de 4,4 %, Bispo *et al.* (2010) de 4,90 - 3,04 %, e Wanderley *et al.* (2012) de 4,92 %, que também expressaram os valores em b.s. O valor de 6,12 % de PB encontrado neste trabalho foi utilizado como referência para o cálculo do aumento proteico (AP) durante as fermentações, em todos os experimentos.

O baixo teor de PB da palma forrageira é relatado por outros pesquisadores, que destacam que essa característica aliada ao baixo teor de matéria seca e fibras são os principais fatores apontados como responsáveis pela perda de peso dos animais, sendo considerados, portanto, como limitantes para a utilização dessa forragem.

A partir dos resultados da Tabela 6, observa-se que o TA encontrado para o sisal *in natura* foi de 70,49 %, este valor é próximo ao resultado encontrado por Brandão *et al.* (2011) de 74,1 %, quando estudaram o valor nutricional dos componentes da planta e dos coprodutos da *Agave sisalana* para alimentação de ruminantes.

O pH encontrado nas amostras do sisal foi de 5,39. Resultados semelhantes foram observados por Nogueira e Piras (2010) quando avaliaram a prospecção para a produção de leveduras e etanol a partir do suco de sisal e Oliveira e Piras (2014) ao estudarem processos fermentativos para a produção de leveduras de panificação a partir do suco de sisal. No entanto, o valor encontrado neste trabalho foi superior ao encontrado por Lima *et al.* (2013) ao determinar o pH do suco do sisal no estudo do seu aproveitamento como substrato para produção de celulose bacteriana (4,48).

Com relação à acidez, o sisal manteve-se dentro da faixa ácida, o que pode ser verificado tanto pelo valor de pH quanto pela análise de AT (3,60%), tornando o pseudocaule do sisal *in natura*, segundo Silva (2015), um substrato com potencial para o crescimento de leveduras, com possível enriquecimento proteico.

O teor médio de PB encontrado neste estudo para o sisal foi de 2,19%, expressos em b.s. Mesmo com esse baixo valor de PB apresentado, os resíduos do sisal (bagaço e/ou polpa) são bastante utilizados na alimentação dos rebanhos durante os períodos de escassez de pastagens, sendo uma alternativa viável aos criadores durante a estiagem. Dessa forma, o sisal necessita ser enriquecido proteicamente, para que ao ser utilizado como forragem, consiga atender as necessidades nutricionais dos animais, com relação ao teor de PB.

Os constituintes minerais da palma forrageira e do sisal *in natura*, utilizados como substratos durante a fermentação semissólida, são apresentados na tabela 7.

Tabela 7. Constituintes minerais da palma e do sisal *in natura*

Minerais (%)	Palma	Sisal
Ca	49,25	69,90
K	38,80	19,33
Fe	4,73	6,41
Mg	3,33	-
P	0,76	1,24
Sr	0,72	1,12
S	0,68	0,63
Mn	0,60	-
Zn	0,38	0,55
Si	0,29	0,34

Segundo Damodaran, Parkin e Fennema (2010) *apud* Silva (2015), os minerais podem ser classificados como macroatmentos, necessários em altas concentrações para o crescimento e desenvolvimento de plantas e animais (Ca, P, Mg, Na, K, Cl) ou microatmentos, encontrados em pequenas concentrações (Fe, I, Zn, Se, Cr, Cu, F e Sn).

A palma forrageira apresentou elevada concentração de Ca (49,25 %), K (38,80%), Fe (4,73%) e Mg (3,33%), com menores porcentagens de P (0,76%), Sr (0,72%), Mn (0,60%), Zn (0,381%) e Si (0,29%).

O sisal também apresentou valores significativos de Ca (69,90 %), K (19,33%) e Fe (6,41%), com menores porcentagens de P (1,24%), Sr (1,12%), Zn (0,55%) e Si (0,34%). Excetuando-se a concentração de K, todos os minerais encontrados no sisal apresentaram-se em maior concentração.

5.3 Caracterização química dos substratos durante o processo de enriquecimento proteico

5.3.1 Teor de água (TA)

Na tabela 8, observa-se a variação do TA em função do tempo de fermentação dos diferentes experimentos, nos quais se variou a concentração de levedura e a concentração de sisal. O tempo 0 h referenciado na tabela refere-se ao início do processo fermentativo, ou seja, logo após a mistura do substrato (*in natura*) e da levedura.

Tabela 8. Valores do teor de água durante o processo de fermentação semissólida

Experimentos	Teor de Água (%)		
	0 h	24 h	48 h
1	81,90	73,54	55,89
2	75,28	63,96	45,05
3	69,19	49,45	26,33
4	81,69	73,33	46,73
5	76,63	71,82	50,12
6	69,67	57,42	45,18
7	81,34	70,79	35,71
8	75,77	72,31	40,51
9	69,60	57,50	31,45
10	75,55	63,79	42,39

Os TA iniciais apresentados pelas amostras no tempo 0 h são próximos aos encontrados para as amostras *in natura*, sendo possível também verificar que ocorreu uma diminuição gradativa no decorrer das 48 h de fermentação.

Essa diminuição do TA nas amostras pode ter sido ocasionada pela circulação de ar dentro da estufa e da temperatura de fermentação estudada. Segundo Roussos *et al.* (1997), o TA do meio pode afetar a atividade de água (*aw*) e conseqüentemente o metabolismo dos micro-organismos, a transferência de calor, a oxigenação e de transferência de massa, dessa forma, influencia diretamente nos resultados do processo fermentativo.

Robinson e Nigam (2003) mencionam que fermentações em meios com baixo TA só pode ser efetuada por um número limitado de micro-organismos, principalmente

leveduras e fungos, uma vez que estes têm a capacidade de se desenvolver em tais condições. Relatam também que o TA no processo de FSS é necessário para o resfriamento do sistema assim como para incorporação de água em novas células microbianas.

5.3.2 pH

Na Tabela 9 estão apresentados a variação do pH durante o processo de FSS nos diferentes experimentos.

Tabela 9. Valores de pH durante o processo de fermentação semissólida

Experimentos	pH		
	0 h	24 h	48 h
1	4,50	4,65	6,72
2	4,73	4,67	4,60
3	5,40	5,40	4,87
4	4,50	4,80	6,75
5	4,71	4,81	4,48
6	5,28	4,27	4,18
7	4,50	4,81	5,97
8	4,63	4,84	4,72
9	5,11	4,08	4,06
10	4,95	4,74	4,55

O pH de todos os experimentos sofreu variação no decorrer do tempo de fermentação. É possível observar que nos experimentos onde apenas há presença de sisal (Exps. 3, 6 e 9), os valores de pH diminuíram no decorrer do processo. Comportamento oposto foi verificado nos experimentos constituído apenas de palma forrageira (Exps. 1, 4 e 7) nos quais ocorreu o aumento gradativo do valor de pH. Este aumento foi mais acentuado entre 24 e 48 h de fermentação.

Nas primeiras 48 h de fermentação não havia indícios de contaminação dos substratos por outros micro-organismos, podendo ser percebido pela aparência do substrato e confirmado pela pequena variação dos valores de pH, em relação ao observado no início da fermentação. No entanto, após 48 h de fermentação, o substrato

dos experimentos que continham apenas palma começou a apresentar cheiro desagradável e coloração escurecida, mostrando ser inviável a continuação do processo de FSS após esse tempo. Campos (2008) também verificou comportamento semelhante ao estudar o enriquecimento nutricional da palma forrageira (*O. ficus indica* Mill) por um período de 72 h.

5.3.3 Proteína Bruta (PB)

Na Tabela 10 são apresentados os valores de proteína bruta nos diferentes tempos de fermentação, referentes aos experimentos realizados.

Tabela 10. Percentual de proteína bruta dos substratos durante o processo de FSS dos experimentos

Tempo (h)	Proteína Bruta (%)									
	Experimentos									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
4	7,70	4,20	2,45	6,82	6,47	4,03	10,76	8,40	4,20	7,90
12	7,44	4,46	2,71	8,84	6,65	4,29	9,45	8,05	4,90	7,70
24	7,12	4,64	3,24	8,66	7,87	4,20	10,06	9,10	5,16	7,90
48	7,61	4,73	3,06	8,84	8,57	4,55	9,63	9,23	4,64	8,40
72	6,91	4,73	2,71	8,57	7,44	3,67	9,80	9,01	4,64	7,00

Nos experimentos em que o substrato era constituído apenas de palma (1, 4 e 7) os maiores teores de PB foram alcançados nas primeiras horas de fermentação, sendo, experimentos 1 e 7 em 4 h de fermentação e experimento 4 com 12 h. O maior percentual de PB em todos os experimentos foi no experimento 7, que alcançou valores de 10,76 %. No experimento 1, o maior valor de PB foi 7,70 % e no experimento 4 foi de 8,84%.

Nas fermentações em que os substratos eram constituídos apenas de sisal, os experimentos 3 e 9 apresentaram os maiores valores de PB com 24 h de processo (3,24 e 5,16 %, respectivamente). O experimento 6 alcançou o valor de PB 4,55 % após 48 h de fermentação.

Com relação aos demais experimentos constituídos de palma e sisal (2, 5, 8 e 10) os maiores valores de PB foram atingidos com 48 h de fermentação, sendo: 4,73, 8,57, 9,23 e 8,40%, respectivamente.

As duas cactáceas estudadas por Silva (2015) apresentaram elevadas porcentagens de PB, após o enriquecimento proteico, sendo observada uma maior porcentagem de PB no facheiro (19,05%) seguido do xiquexique (16,50%).

5.3.4 Aumento Proteico (AP)

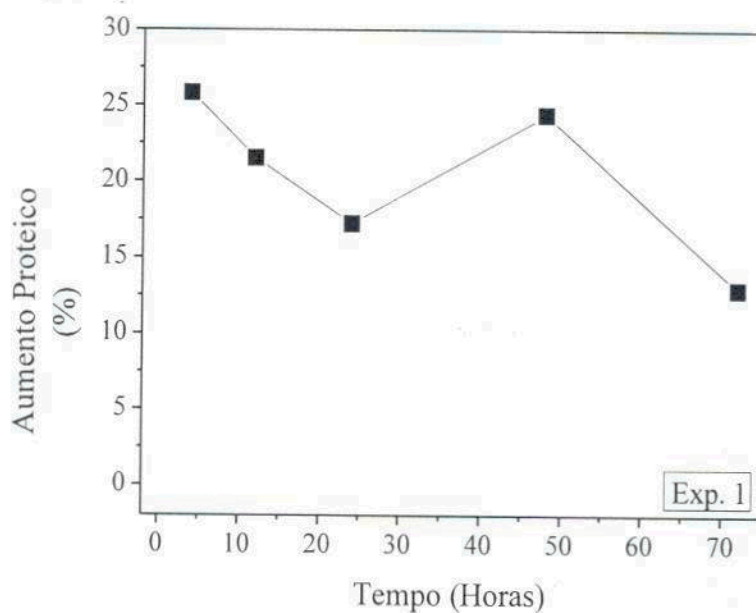
Os valores de aumento proteico, referentes aos dez experimentos realizados durante 72 h de fermentação, encontram-se na Tabela 10.

Tabela 11. Percentual do aumento proteico dos substratos durante o processo de FSS dos experimentos.

Tempo (h)	Aumento Proteico (%)									
	Experimento									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
4	25,82	1,20	11,87	11,52	56,02	83,79	75,86	102,41	91,78	62,35
12	21,53	7,53	23,86	44,40	60,24	95,78	54,41	93,97	123,74	58,13
24	17,24	11,75	47,83	41,54	89,76	91,78	64,41	119,28	135,73	62,35
48	24,39	13,85	39,84	44,40	106,63	107,76	57,27	123,49	111,76	102,41
72	12,95	13,85	23,83	40,11	79,22	67,81	60,13	117,17	111,76	68,67

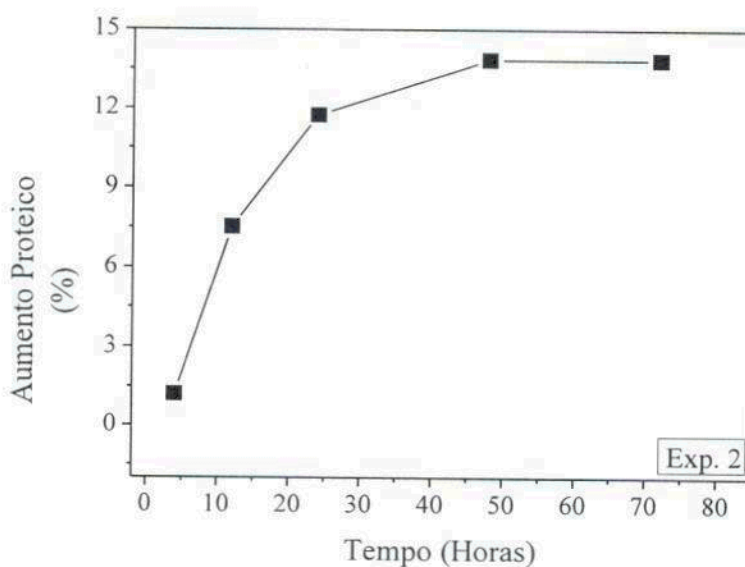
A seguir (Figuras 10 a 19) está representada graficamente a variações do AP dos substratos nos dez experimentos durante o processo FSS. A escolha do tempo ideal para a fermentação foi atribuída ao tempo onde foi alcançado o maior AP para cada experimento.

Figura 10. Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 1

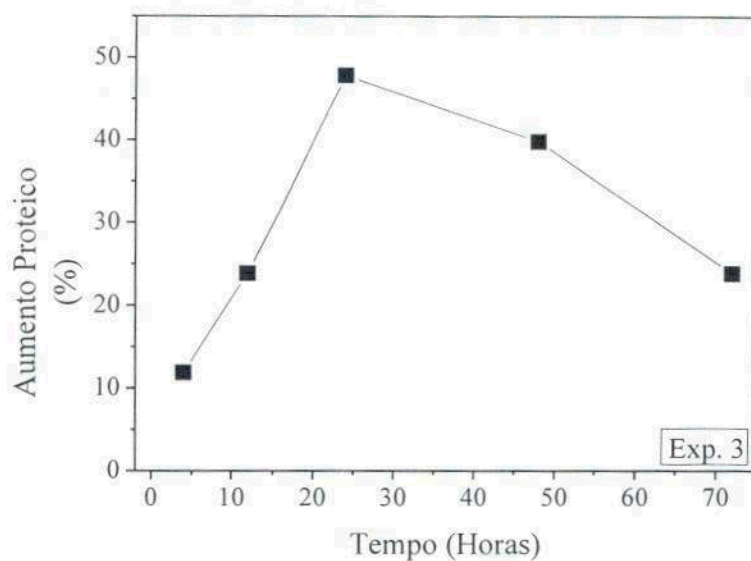


O experimento 1 obteve um percentual máximo de AP de 25,82%, esse aumento foi conseguido após 4 h de fermentação. A Figura 10 mostra o comportamento do AP (%) durante as 72 h de fermentação.

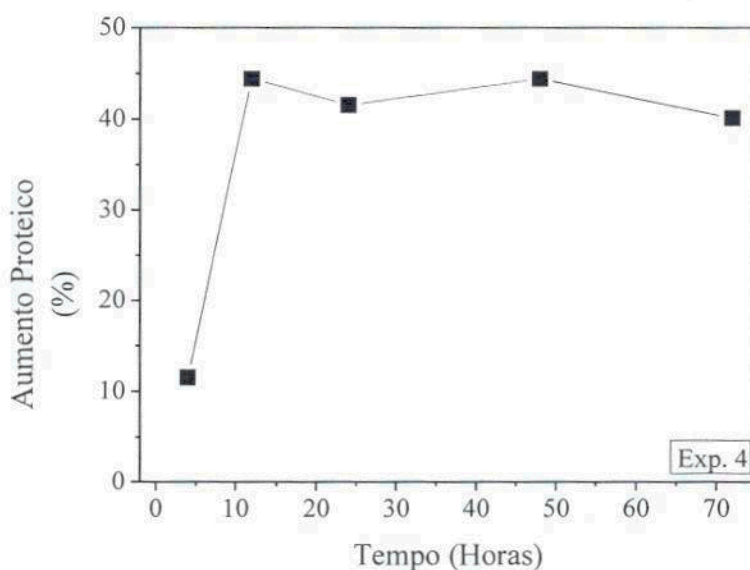
Figura 11 Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 2



O AP alcançado no experimento 2, após 48 h de processo (Figura 11), foi de 13,85%. O teor de PB do substrato neste experimento aumentou de 4,15 para 4,73%.

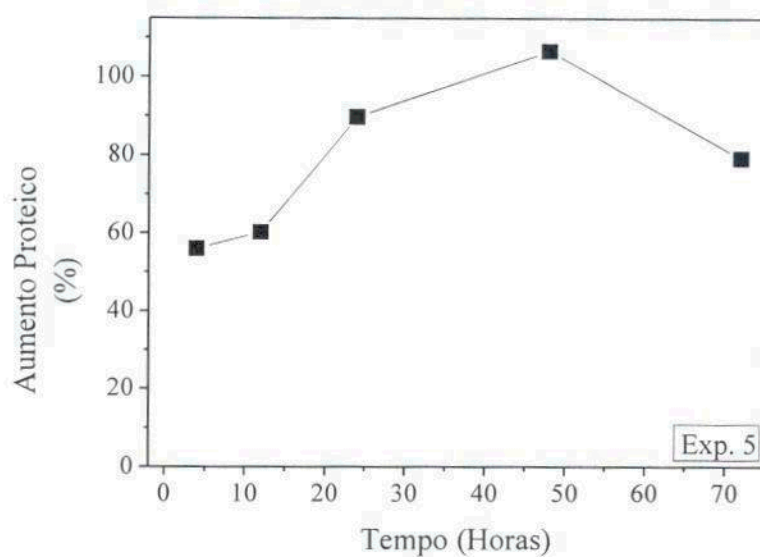
Figura 12 Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 3

Para o experimento 3, o maior teor proteico encontrado foi de 3,24%, que correspondeu a um incremento de 47,83 %, para o tempo de 24 h. Este tempo é observado no pico apresentado pela Figura 12.

Figura 13. Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 4

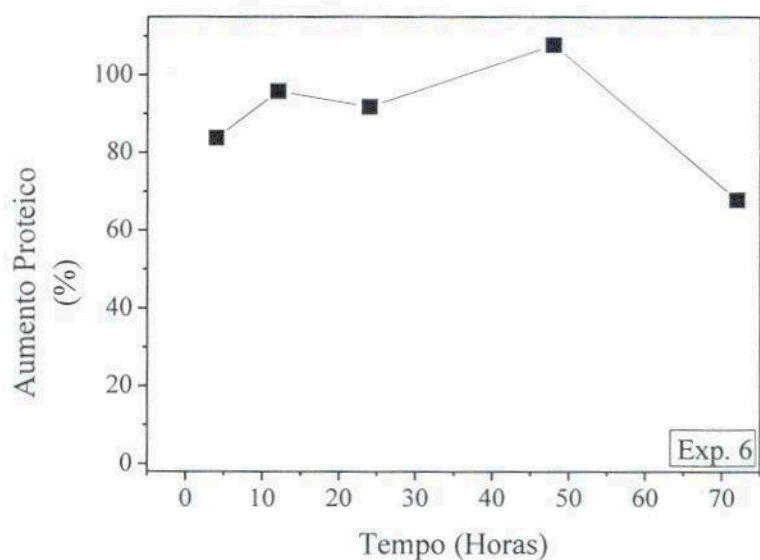
Após 12 h de fermentação, o substrato do experimento 4 obteve um aumento de 44,40 %, aumentando a proteína bruta de 6,12 para 8,84%, conforme Figura 13.

Figura 14. Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 5.



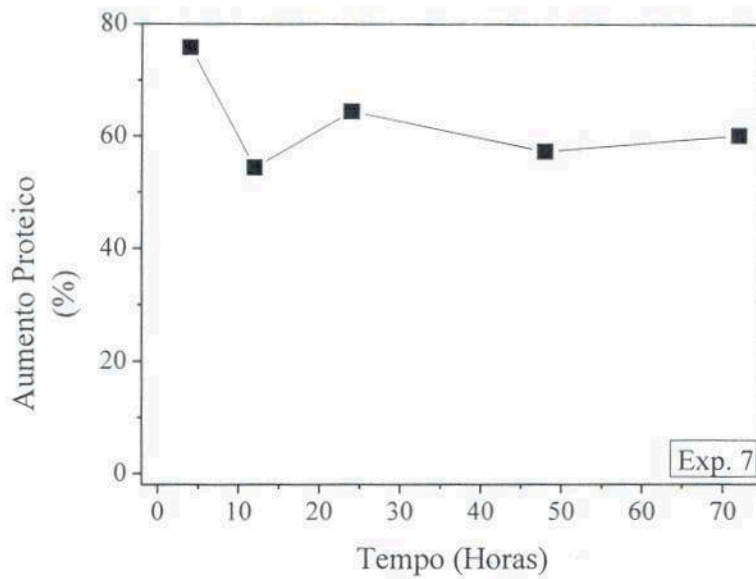
De acordo com a Figura 14, os experimentos 5 alcançou um AP de 106,63%. Este aumento foi alcançado após 48 h de fermentação.

Figura 15. Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 6



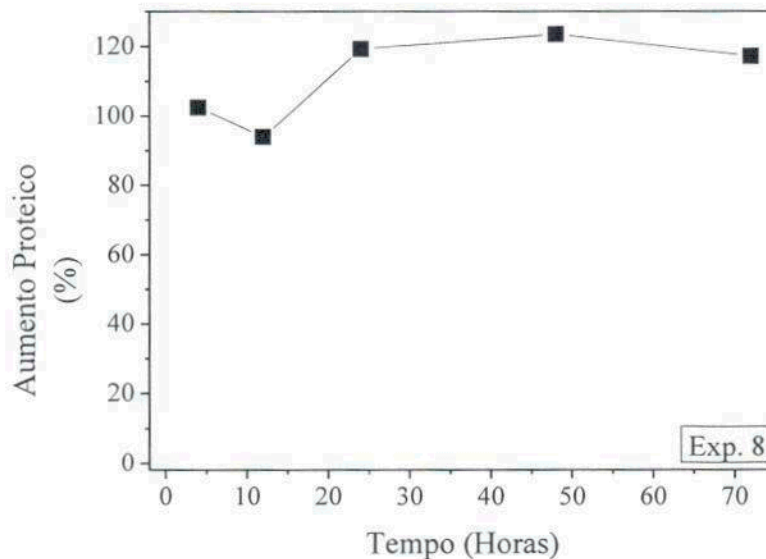
Após 48 h de fermentação, o substrato do experimento 6 obteve um aumento de 107,76 %, conforme Figura 15.

Figura 16. Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 7



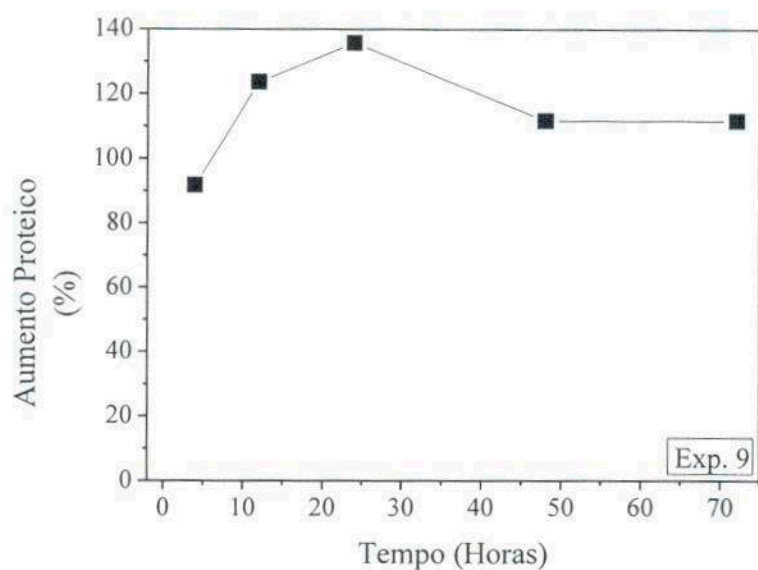
De acordo com a Figura 16, os experimentos 7 alcançou um aumento proteico de 64,41%. Este aumento foi alcançado nas primeiras 4 horas de fermentação.

Figura 17. Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 8.



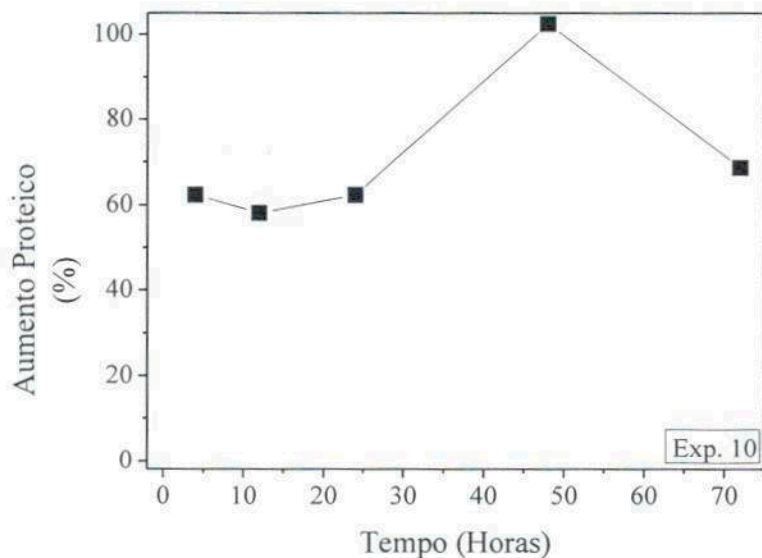
Após 48 h de fermentação, o substrato do experimento 8 obteve um aumento de 123,49 %, como pode ser observado na Figura 17.

Figura 18. Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 9



Para o experimento 9 (Figura 18) após 24 h de fermentação, o maior valor alcançado de AP foi de 135,73%.

Figura 19. Cinética do aumento proteico durante a FSS, experimento 10



Após 48 h de fermentação, o maior valor alcançado de AP foi de 102,41%, para o experimento 10, conforme pode-se observar na Figura 19.

5.4 Planejamento Experimental

A Tabela 12 apresenta a matriz do planejamento fatorial utilizado no processo de enriquecimento proteico da palma forrageira associada ao sisal com os melhores valores de aumento proteico com o correspondente valor alcançado de proteína bruta de cada experimento durante as 72 horas de fermentação, com o intuito de avaliar a influência das variáveis escolhidas sobre o teor proteico do substrato.

Tabela 12. Resultados das respostas para o aumento proteico da palma forrageira associada ao sisal

Experimentos	Concentração	Concentração	Proteína bruta	Aumento proteico
	de levedura	de sisal		
	Nível			%
1	-1	-1	7,70	25,82
2	-1	0	4,73	13,85
3	-1	+1	3,24	47,83
4	0	-1	8,84	44,40
5	0	0	8,57	106,63
6	0	+1	4,55	107,76
7	+1	-1	10,76	75,85
8	+1	0	9,27	123,49
9	+1	+1	5,16	135,73
10	0	0	8,4	102,41

Considerando que um valor de probabilidade de 95 % ($P < 0,05$) de confiança é satisfatório, foi possível estabelecer um modelo de segunda ordem (Equação 3), onde C_L é a concentração de levedura e C_S é a concentração de sisal, mostrando como resposta uma função “AP”, cujos valores dos coeficientes foram obtidos pelo programa estatística. Na equação do modelo empírico, o coeficiente que teve efeito significativo na resposta, ao nível de 95 % de confiança, é mostrado em destaque.

$$AP = 97,09 + \mathbf{44,54 C_L} - 20,99 C_L^2 + \mathbf{20,82 C_S} - 13,58 C_S^2 + 14,38 C_L \cdot C_S \quad (3)$$

O coeficiente de regressão (R^2) obtido foi igual a 0,94. Isto significa que este modelo de regressão prevê uma boa explicação da relação entre as variáveis independentes (C_L e C_S) e a resposta (AP), ou seja, o modelo proposto consegue explicar com cerca de 94 %, a variância da resposta. Valores de R^2 devem ser próximos da unidade, o que nos mostra que os resultados foram satisfatórios (BARROS NETO, SCARMINIO e BRUNS, 1995).

A avaliação estatística do modelo foi determinada pelo teste de Fisher para análise de variância que são mostrados na Tabela 13. Os resultados da ANOVA listados demonstram que o modelo estatístico é significativo e preditivo para a variável de interação C_L (L) e C_S (L), considerando $p < 0,05$.

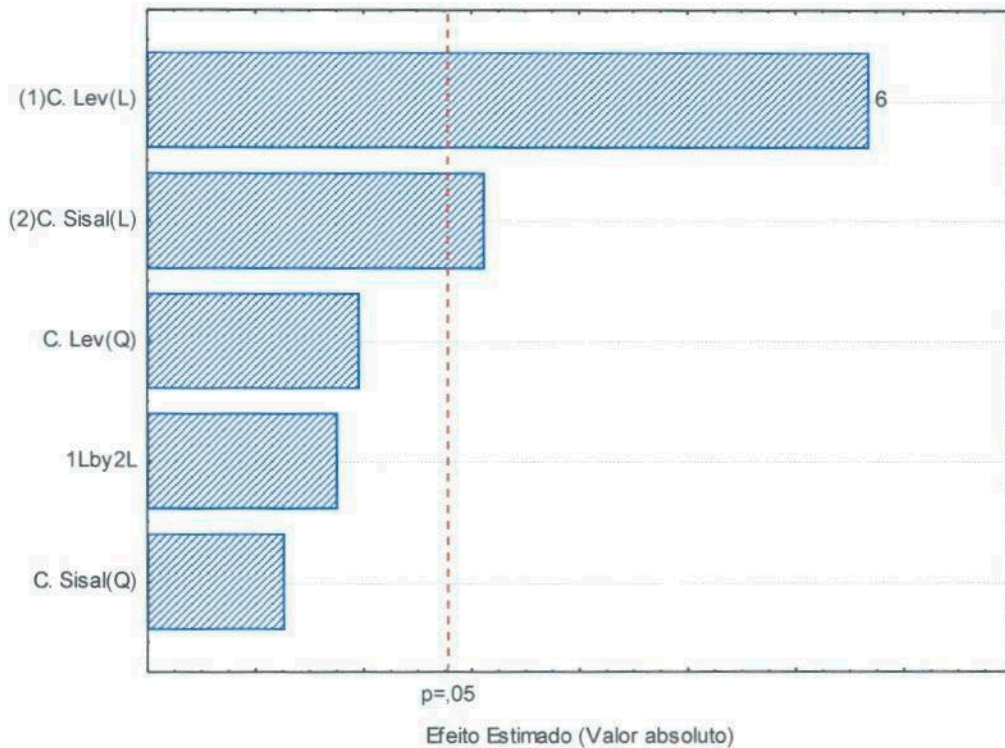
Tabela 13. Resultados da ANOVA para o Aumento Proteico (AP).

Fator	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Média Quadrática	F	P
C_L (L)	11904,65	1	11904,65	44,67714	0,00260
C_L (Q)	1028,30	1	1028,30	3,85912	0,12093
C_S (L)	2600,83	1	2600,83	9,76071	0,03538
C_S (Q)	430,49	1	430,49	1,61558	0,27260
C_L (L) . C_S (L)	827,71	1	827,71	3,10634	0,15277
Erro	1065,84	4	266,46		
Total SS	18127,62	9			

O diagrama de Pareto (Figura 20) apresenta graficamente os efeitos significativos das variáveis de entrada, ao nível de confiança utilizado. Os valores que ultrapassam “p” são considerados estatisticamente significativos.

A Figura 20 representa o gráfico de Pareto para o AP, com 95% de confiança. Neste gráfico, verifica-se que a concentração de levedura (linear) e a concentração de sisal (linear) influenciaram no AP da palma e do sisal.

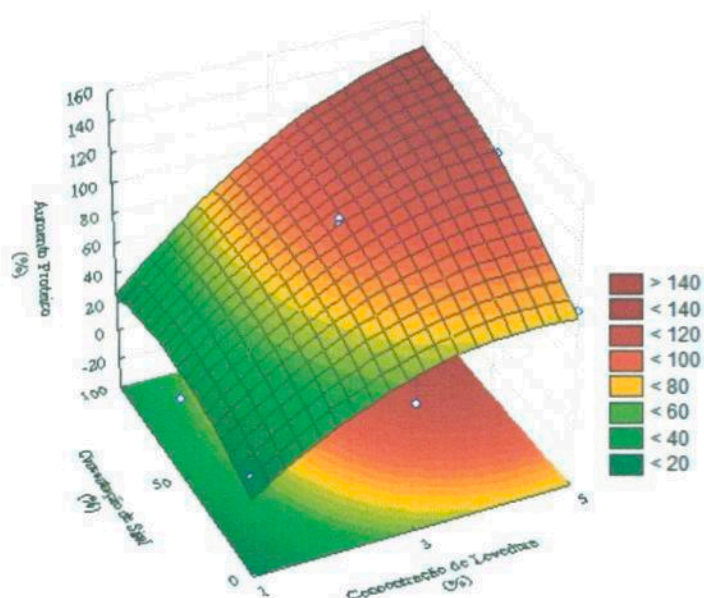
Figura 20. Gráfico de Pareto para o aumento proteico da palma e do sisal, com 95% de confiança.



A Figura 21 ilustra a superfície de resposta (obtida pela técnica MSR), da influência da concentração de suplemento mineral e da massa de sisal, sobre a resposta AP, buscando observar tendências. Pode-se verificar dentro da faixa de valores estudada de concentração de levedura e de concentração de sisal, que as duas variáveis apresentaram influências positivas no AP. Ou seja, existe a tendência de aumento de ganho de proteínas durante o processo quando se aumenta os valores tanto de concentração de levedura quanto de concentração de sisal.

Os maiores valores de AP foram encontrados com maiores valores de concentração de levedura (5 %) e também maiores valores de concentração de sisal (100 %). Relacionando os valores encontrados na Tabela 12, verifica-se que o experimento 9 obteve um AP de **135,73 %**, o que corresponde a um percentual máximo de PB de **5,16 %**.

Figura 21. Superfície de resposta das variáveis estudadas para a resposta AP



Campos (2003) e Campos (2008) quando estudaram a influência da concentração de leveduras no processo de enriquecimento proteico do bagaço de caju e da palma forrageira, respectivamente, verificaram que esta variável influenciou de forma significativa no processo. Alcançou-se nestes estudos AP de 20,25 e 40,61%.

Araújo (2004) trabalhando com o enriquecimento proteico da palma forrageira, estudando a influência das variáveis concentração de levedura e temperatura de fermentação, fixando a espessura da camada de substrato, encontrou um AP de 200%, sendo a concentração inicial de levedura a única variável que teve influência significativa na resposta.

Oliveira (2014) quando estudou o enriquecimento proteico do facheiro, avaliando a influência da concentração de levedura e da espessura da camada de substrato, observou também que apenas a concentração de levedura influenciou de forma significativa e positiva o AP do facheiro. O AP máximo alcançado neste estudo foi 162,7% após 8 h de processo fermentativo.

Silva (2015) estudando o enriquecimento proteico de cactáceas por fermentação semissólida, avaliando a influência da concentração de levedura e temperatura de fermentação no AP no facheiro e do xiquexique, observou que as duas variáveis influenciaram no AP, sendo o maior valor alcançado de 128,97%, para o facheiro e 181,57%, para o xiquexique.

6. CONCLUSÕES

A fermentação semissólida a 35°C da palma forrageira com inoculação de 5 % de levedura proporcionou o maior aumento proteico encontrado. O AP foi aproximadamente de 135,73% vezes, tendo como base o teor de proteína do substrato antes da adição da levedura.

O tempo de fermentação necessário para obtenção do maior aumento proteico foi de 24 horas de fermentação, experimento 9.

As duas variáveis estudadas, concentração de levedura e concentração de sisal, apresentaram influência significativa e positiva no processo fermentativo da palma forrageira e do sisal.

O emprego da levedura na fermentação semissólida da palma e do sisal viabiliza a obtenção de um concentrado proteico, que poderá posteriormente ser utilizado como fonte alternativa de maior potencial proteico, quando comparada as forragens oferecidas aos animais.

7. REFERÊNCIAS

- ANDRADE JÚNIOR, T. E. **Produção de alumina biomófica a partir do sisal e de outros materiais ligninocelulósicos**. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências Exatas e da Terra, 2006.
- ALBERTINI, S.; CARMO, L. F.; PRADO FILHO, L. G. Determinação de isotermas de adsorção de *Saccharomyces cerevisiae* empregando acetato e sulfato de cádmio. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 248-253, Campinas, 2007.
- ARAÚJO, L. F.; SILVA, F. L. H.; OLIVEIRA, L. S. C.; MEDEIROS, A. N.; NETO, A. P.. Bioconversion of the mandacaru spineless (*Cereus jamacaru*) in alternative feed for ruminants. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 3, n. 1, p. 53–57, 2009.
- ARAÚJO, L. F. *et al.* Protein Enrichment of Cactus Pear (*Opuntia ficus indica* Mill.) using *Saccharomyces cerevisiae* in solid-state fermentation. **Braslian Archives of Biology And Tecnology**, v. 48, p.161- 168, 2005
- ARAÚJO, L. F. **Enriquecimento proteico do mandacaru sem espinhos (*Cereus jamacaru* P.DC) e palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) por fermentação semissólida**. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos Químicos), 195p. Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, PB, 2004.
- ARAÚJO, L. F. *et al.* Enriquecimento protéico da palma forrageira com *Saccharomyces cerevisiae* para alimentação de ruminantes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 60, n. 2, p. 401–407, 2008.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, J. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. Editora da UNICAMP, Campinas, 1995.
- BHARGAV, S.; *et al.* Solid-state fermentation systems-an overview. **Critical reviews in biotechnology**, v. 25, n. 1-2, p. 1–30, 2008.
- BISPO, S. V. *et al.* Comportamento ingestivo de vacas em lactação e de ovinos alimentados com dietas contendo palma forrageira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 9, p. 2024–2031, 2010.
- BONASSA, G. *et al.* **Influência da temperatura e do pH no processo de**

fermentação. n. 1, p. 3–4, 2013.

BORZANI, W. *et al.* **Biotecnologia Industrial- Fundamentos**. Editora Ed, ed. São Paulo, 2001.

BRANDÃO, L. G. N. *et al.* Valor nutricional de componentes da planta e dos coprodutos da Agave sisalana para alimentação de ruminantes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 6, p. 1493–1501, 2011.

CAMPBELL, N. **Cadeia Produtiva do Sisal no Semi-Árido Baiano**. FACULDADE DE TECNOLOGIA SENAI CIMATEC, 2007.

CAMPOS, A. R. N.; DANTAS, J. P.; SILVA, F. L. H. **Enriquecimento proteico do bagaço do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale*) por fermentação semissólida**, In: XIV Simpósio Nacional de Fermentações, SINAFERM, Florianópolis, 2003.

CAVALCANTE, A. C. R.; CÂNDIDO, M. J. D. **Alternativas para aumentar a disponibilidade de alimentos nos sistemas de produção a pasto na região Nordeste**. Embrapa Caprinos, 31p. (Documentos 47), 2003.

CAMPOS, A. R. N. **Enriquecimento nutricional da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* mill): estudo experimental de ampliação de escala**. Tese, Universidade Federal de Campina Grande, 2008.

CHIEPPE JÚNIOR, J. B. **Tecnologia e Fabricação do Alcool**. Santa Maria, 2012.

DATA AMÉRICA. Projeto palma: relatório técnico. Disponível em: <<http://www.pe.sebrae.com.br:8080/notitia/download/palma.pdf>>. Acesso em 20 de Março de 2016.

DORTA, B. *et al.* Water balance in solid state fermentation without forced aeration. **Enzyme Microbiology Technology**, v.16, p.562-565, 1994.

DUNAND, A. *et al.* Dijon reactors for solid state fermentation: designs and applications. **Journal of Scientific and Industrial Research**, v.55, n.3, p.317-332, 1996.

FARIAS, V. F. S. **Avaliação do desenvolvimento, qualidade e capacidade antioxidante em brotos de palma (*Opuntia sp.*) para o consumo humano**.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE, 2013.

FERNANDEZ, M. *et al.* Automation of a solid substrate cultivation pilot reactor. **Bioprocess Engineering**, v.16, p.1-4, 1997.

FERREIRA, C. A. *et al.* Utilização de técnicas multivariadas na avaliação da divergência genética entre clones de palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p. 1560–1568, 2003.

FERREIRA, M. A.; PESSOA, R. A. S.; BISPO, S. V. Otimização de dietas a base de palma forrageira e outras alternativas de suplementação para regiões semi-áridas. In: VII SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 2011, **Anais...**, p. 241–266, 2011.

GALVÃO JÚNIOR, J. G. B. *et al.* Palma forrageira na alimentação de ruminantes : cultivo e utilização. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 8, n. 2, p. 78–85, 2014.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. Coordenadores: Odair Zenebon; Neus Sadoco Pascuet & Pablo Tigea. Ed. 4, 1ª Edição Digital, São Paulo, 2008.

LIMA, H. S. L. *et al.* Aproveitamento Do Líquido Do Sisal Como Substrato. **XIX Simpósio nacional de bioprocessos; X Simpósio de Hidrólise enzimática de biomassas**, p. 4, 2013.

LOMAURO, C. J.; BAKSHI, A. S.; LABUZA, T. P. Evaluation of food moisture sorption isotherm equations. Part I: Fruit, vegetable and meat products. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, Zurich, n.2,v.18, p.111-117, 1985.

MACEDO, A. D. B. *et al.* Enriquecimento proteico da palma forrageira e do sisal por fermentação semissólida. **Revista Saúde & Ciência** (Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde). v. 4, n. 3, p. 7-11. 2015a.

MACEDO, A. D. B. *et al.* Bioconversão da palma forrageira e do sisal como alternativa para alimentação animal. **Blucher Chemistry Proceedings**, v. 3, n. 1, p. 9, 2015b.

MARCONATO, C. Salva de palmas. Sistema de cultivo desenvolvido pelo agrônomo Paulo Suassuna multiplica a produtividade, incentiva a criação de agroindústrias e gera renda no sertão paraibano. **Revista globo rural**. Edição 272, Junho, 2008

- MAUREL, V. B.; OORLIAC, O.; CHRISTEN, P. Sensors and measurements in solid state fermentation: a review. **Process Biochemistry**, v.38, p.881-896, 2003.
- PERAZZO NETO, A. **Determinação de parâmetros para o enriquecimento protéico da palma (*Opuntia ficus indica*) e vagens de algarroba (*Prosopis juliflora*) com *Aspergillus niger***. Tese Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999.
- MARTIN, A. R. *et al.* Caracterização química e estrutural de fibra de sisal da variedade *Agave sisalana*. **Polimeros: Ciência e Tecnologia**, v. 19, n. 1, p. 40–46, 2009.
- MARTINS, S.; *et al.* Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 3, p. 365–373, 2011.
- MOHAMED-YASSEEN, Y.; BARRINGER, S. A.; SPLITTSTOESSER, W. E. A note on the uses of *Opuntia* spp in Central/North America. **Journal of Arid Environments**, v. 32, n. 3, p. 347–353, 1996.
- MOURA, M. S. B. Aptidão do Nordeste brasileiro ao cultivo da palma forrageira sob cenários de mudanças climáticas. In: SIMPÓSIO DE MUDANÇAS CLIMÁTICAS E DESERTIFICAÇÃO NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO. Juazeiro. **Experiências para mitigação e adaptação: anais**. Embrapa Semiárido, Petrolina, 2011.
- NAGEL, F. J. J. I. *et al.* Temperature control in a continuously mixed bioreactor for solid station fermentation. **Biotechnology and Bioengineering**, v.72, p.219-230, 2001.
- NASCIMENTO, K. F.; TESHIMA, E.; SILVA, C. M. R. **Caracterização físico-química de cladódios de palma**. p. 611–614, 2005.
- NOGEIRA, J. P.; PIRAS, P. R. F. **Prospecção para a produção de leveduras e etanol a partir do suco de sisal**. Universidade Federal de Feira de Santana, p. 599–602, 2010.
- NUNES, C. S. Uses and Applications Palm Forage As a Major Source of Economy for the Semi-arid. **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável**, v. 6, n. 1, p. 58–66, 2011.
- OLIVEIRA, M. M. **Enriquecimento nutricional por bioconversão de resíduos agroindustriais para utilização na alimentação animal**. Tese Dotourado,

Universidade de Campina Grande, Campina Grande, 2007.

OLIVEIRA, A. R. P.; PIRAS, P. R. F. **Processos fermentativos para a produção de leveduras de panificação a partir do suco de sisal**. Universidade Federal de Feira de Santana, p. 512–515, 2014.

OLIVEIRA, J. B. **Enriquecimento proteico do fecheiro po fermentação semissólida**. Universidade Federal de Campina Grande; Centro de Educação e Saúde, 2014.

OLIVEIRA, M. M.; CAMPOS, A. R. N.; SILVA, F. L. H. Enriquecimento nutricional dos resíduos do abacaxi (*Ananas comosus*). **X Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação**, p. 2387–2390, 2006.

PANDEY, A. Recent developments in solid-state fermentation. **Process Biochemist**, v.27, p.109-117, 1992.

PANDEY, A. *et al.* Recent advances in solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 44, n. 1, p. 13–18, 2009.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; MITCHELL, D. New developments in solid state fermentation: I-bioprocesses and products. **Process Biochemistry**, v. 35, n. 10, p. 1153–1169, 2000.

PEDREIRA, E. M.; RIGO, E. J. **Silagem produzida com mucilagem de sisal enriquecida com uréia**. 2009.

PEREIRA, E. M. *et al.* Qualidade pós-colheita e processamento mínimo de brotos de palma *Opuntia ficus indica* Mill. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 3, p. 221–226, 2013.

RAIMBAULT, M.; RAMIRES T. C. Grow of *Rhizopus sp* on ungelatinized cassava flour in solid state fermentation for protein enrichment. In: ROSSOS, S. LONSANE, B.K; RAIMBAULT, M; VINEGRA-GONZALEZ, G. Advances in solid state fermentation. Netherlands. **Kluwer Academic Publishers**. p.169-181, 1980.

ROBINSON, T.; NIGAM, P. Bioreactor design for protein enrichment of agricultural residues by solid state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, n. 2-3, p. 197–203, 2003.

- RODRIGUES, C. **Desenvolvimento de bioprocesso para produção de ácido cítrico por fermentação no estado sólido utilizando polpa cítrica**. Universidade Federal do Paraná, 2006.
- ROUSSOS, S. *et al.* **Advances in Solid State Fermentation**. 1997.
- SANTOS, R. C. *et al.* Enriquecimento protéico de bagaço do pseudofruto do caju por via fermentativa. **1º Congresso Química do BRasil**, p. 1–6, 2010.
- SATO, K.; NAGATANI, M.; SATO, S. A method of supplying moisture to the medium in a solid-state culture with forced aeration. **Journal Fermentation Technology**, v.60, p.607-610, 1982.
- SECRETARIA DE CIÊNCIA TECNOLOGIA E INOVAÇÃO – SECTI. Plano de Desenvolvimento do APL de sisal da Bahia. Governo do estado da BAHIA. Salvador, 2007.
- SCHMIDELL, W.*et al.* **Biotecnologia industrial. Engenharia Bioquímica**. 1º. ed. São Paulo, 2001.
- SILVA, J. D. Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos). Editora UFV. São Paulo, 1998.
- SILVA, O.R.R.F.; BELTRÃO, N.E.M. **O agronegócio do sisal no Brasil**. Brasília: Embrapa SPI; Embrapa CNPA,. 205p. Campina Grande, 1999
- SILVA, C. C. F.; SANTOS, L. C. Palma Forrageira (*Opuntia Ficus Indica* Mill) como alternativa na alimentação de ruminantes (Forage Palm (*Opuntia Ficus Indica* Mill) as alternative in ruminant feeding). **Revista Electrónica de Veterinaria -REDVET**, v. VII, n. 10, p. 1–13, 2006.
- SILVA, N. G. M. **Produtividade, morfometria e acúmulo de nutrientes da palma forrageira sob doses de adubação orgânica e densidade de plantio**. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal do Ceará, 2012.
- SILVA, O. R. R. F.*et al.* Cultivo do Sisal no Nordeste Brasileiro. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Embrapa**, Campina Grande, p. 1–24, 2008.

- SIMÕES, D. A.; SANTOS, D. C. dos; DIAS, F. M. Introdução da palma forrageira no Brasil. IN: MENEZES, R. S. C.; SIMÕES, D. A.; SAMPAIO, E. V. S. B. (Ed.). In: A palma no Nordeste do Brasil: conhecimento atual e novas perspectivas de uso. Recife: Ed. Universitária da UFPE, 2005. p. 13-26.
- SOUZA, J. L. U.; MONTEIRO, R. A. B. FATORES Interferentes na fermentação alcoólica para a produção de etanol. , p. 100–107, 2011.
- TEDESCO, J. M. et al. Análise de solo, plantas e outros materiais, Porto Alegre, 1995.
- TEIXEIRA, J. C. *et al.*. Cinética da digestão ruminal da palma forrageira (*Nopalea cochenillifera* (L.) Lyons-Cactaceae) em bovinos e caprinos. **Ciênc. e Agrotec.**, v. 23, n. 1, p. 179–186, 1999.
- THIEMANN, J.E. Produção de enzimas por fermentação em substrato semisólido com especial referência às celulases. In: **Seminário de Hidrólise Enzimática de Biomassas**, Maringá. p.107-131, 1985.
- THOMAS, L.; LARROCHE, C.; PANDEY, A. Current developments in solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 81, p. 146–161, 2013.
- VALADARES FILHO, S. C. et al. 2006. Degradação rmlinal da proteína dos alimentos e sntese de proteína microbiana. In: VALADARES FILHO, S. C.; PAULINO, P. V. R.; MAGALHÃES, K. A. Exigências nutricionais de zebuinos e tabelas de composição de alimentos BR-Corte. 1ª ed. Viçosa, MG: Suprema Gráfica. 142 p.
- WANDERLEY, W. L. *et al.* V. Silagens e fenos em associação à palma forrageira para vacas em lactação. Consumo, digestibilidade e desempenho. **Rev. Bras. Saúde Prod. Animal**, v. 13, n. 3, p. 745–754, 2012.
- WARD, O. P. **Biotecnologia de la Fermentacion**. Zaragoza, 1993.