



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE - UFCG
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMAS
AGROINDUSTRIAIS-PPGSA

ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DA MISTURA DE BAGAÇO DE CAJU
(*Anacardium occidentale L.*) E BROTOS DE PALMA (*Nopalea cochenilifera*
***Salm-Dyck*) POR PROCESSOS BIOTECNOLÓGICOS PARA USO NA**
ALIMENTAÇÃO HUMANA

ORIENTANDO: GERALDO NEVES DE OLIVEIRA JÚNIOR

Pombal - PB
Dezembro/2015

**ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DA MISTURA DE BAGAÇO DE CAJU
(*Anacardium occidentale L.*) E BROTOS DE PALMA (*Nopalea cochenilifera*
Salm-Dyck) POR PROCESSOS BIOTECNOLÓGICOS PARA USO NA
ALIMENTAÇÃO HUMANA**

Geraldo Neves de Oliveira Júnior

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais da Universidade Federal de Campina Grande, do Centro de Ciências em Tecnologia Agroalimentar – campus Pombal como parte dos requisitos para a obtenção do Grau de Mestre em Sistemas Agroindustriais.

Área de concentração: Ciência e Tecnologia em Sistemas Agroindustriais

Orientadores:

Prof.^a Dra. Mércia Melo de Almeida Mota

Prof. Dr. Osvaldo Soares da Silva

Pombal - PB

**ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DA MISTURA DE BAGAÇO DE CAJU
(*Anacardium occidentale L.*) E BROTOS DE PALMA (*Nopalea cochenilifera
Salm-Dyck*) POR PROCESSOS BIOTECNOLÓGICOS PARA USO NA
ALIMENTAÇÃO HUMANA**

Geraldo Neves de Oliveira Júnior

Dissertação aprovada em 18 de dezembro de 2015

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Mércia Melo de Almeida Mota
Orientadora

Prof. Dr. Osvaldo Soares da Silva
Orientador

Prof.^a Dra. Ângela Maria Santiago
Examinadora externa

Prof.^a Dra. Josilene de Assis Cavalcante
Examinadora externa

DEDICATÓRIA

A Deus que permitiu a aplicação das minhas forças e faculdades humanas para alcançar esse objetivo. Seu fôlego de vida me deu coragem para questionar realidades e propor sempre um novo mundo de possibilidades.

À minha família, por sua capacidade de acreditar e investir em mim.

À minha mãe, seu cuidado e dedicação deram, em alguns momentos, a esperança para seguir desde o início nos meus estudos, desde jovem.

Ao meu pai Geraldo Neves (*in memoriam*), sua presença significou segurança e certeza de que não estou sozinho nessa caminhada.

À minha esposa Verônica, meus filhos Geraldo, Rodolpho, Leonardo, Alexandre e Camila, que me incentivaram a continuar me esforçando e estudando a cada dia.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em, primeiro lugar, ao autor da Existência, aquele que permite que todas as coisas se concretizem, nosso único e verdadeiro Deus.

À minha Professora Orientadora Mércia que teve paciência, dedicação, profissionalismo com o qual me foi possível a conclusão deste trabalho.

Ao meu Professor e Orientador Osvaldo, pelo incentivo, e colaboração nas etapas decisivas na execução desta pesquisa.

A todos os meus professores do mestrado que ao longo desses anos me ensinaram e me mostraram o quanto estudar é bom.

Aos colegas do Laboratório de Tecnologia de Alimentos Gilvan, Branca, Helenice (Coordenadora), Isabel e, especialmente aos colegas Cândido José Ferreira Neto e Leda Guedes Cavalcante na execução de algumas análises realizadas.

Ao Prof. Artur Raimundo sempre pronto a colaborar com orientações e incentivos recebidos.

Ao Prof. Vital de Sousa Queiroz pelo incentivo e disponibilização de máquinas, equipamentos e laboratórios para execução deste trabalho, sem os quais não teríamos realizado, meus sinceros agradecimentos.

Aos colegas dos Laboratórios de Engenharia de Alimentos Joselma (Coordenadora) Thayse e especialmente a Francisco de Assis Vasconcelos Neto pelo constante apoio e permanente disponibilização de máquinas e equipamentos e por sua colaboração nas atividades desenvolvidas.

Aos colegas do Laboratório de Biotecnologia Débora Jamila Nóbrega de Melo e Josevan da Silva pela colaboração na execução das análises laboratoriais.

À Prof.^a Dra. Maria Lúcia da Conceição Coordenadora do Laboratório de Microbiologia e Bioquímica dos Alimentos do Departamento de Nutrição pela notável colaboração na determinação de fibra alimentar.

Aos colegas da EMEPA Manoel Antônio de Almeida - diretor técnico, Ivonete Berto Menino – pesquisadora, Ailton Melo de Moraes – pesquisador e Maria Inês Almeida Formiga - secretária EMEPA, por ter cedido toda a matéria prima (palma e caju) para a realização desta pesquisa.

A todas as pessoas que, diretamente ou indiretamente, contribuíram para a construção dos meus valores: meus pais, os mestres do passado e todos os que compartilharam um pouco do seu saber comigo e com os meus amigos nesta vida acadêmica. Não vou deixar de agradecer a compreensão de pessoas especiais, quando minha presença não foi possível e quando minha preocupação e atenção pareciam se voltar exclusivamente para este trabalho, o meu muito obrigado.

Finalmente um agradecimento especial ao meu filho Leonardo Sousa Neves de Oliveira pela dedicação que teve no envolvimento do trabalho de campo, preparação da matéria prima e elaboração do material de mídia.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar o aumento proteico da mistura de brotos da palma forrageira com o bagaço de caju procedendo-se o enriquecimento nutricional dessa mistura com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, através da fermentação semissólida, visando à produção de um suplemento nutricional para alimentação humana. Foram avaliados a influência da concentração da levedura - CL e temperatura -T sobre o teor de proteína bruta - PB e aumento proteico - AP, com o uso de biorreatores tipo bandeja. Os resultados dos testes apontaram que a temperatura de fermentação foi uma variável que não apresentou influência estatística significativa sobre as respostas estudadas, diferentemente da CL que foi estatisticamente significativa sobre o teor de PB e AP ao nível de 95% de confiança. Os maiores percentuais de PB e de AP foram obtidos na concentração de leveduras de 10% e temperatura de 30°C com 72h de fermentação. Nessas condições a fermentação realizada no biorreator alcançou 17,91 % de proteína bruta, o que representa um AP em torno de 2,07 vezes. A composição centesimal de brotos de palma forrageira e bagaço de caju na proporção de 1:1 poderá ser utilizada como suplemento nutricional para alimentação humana, sendo uma alternativa de baixo custo produtivo. A atividade de água dessa mistura situou-se em torno de 0,37 bem próxima da faixa ideal de atividade de água compreendida entre 0,25-0,35 a qual é desfavorável ao crescimento de microrganismos.

Palavras Chave: Enriquecimento proteico, Biotecnologia, Cactácea, Resíduos.

ABSTRACT

The objective of this work was to study the protein increase in forage cactus mix with cashew bagasse proceeding to the nutritional enrichment (protein) of this mixture with the yeast *Saccharomyces cerevisiae* by semi-solid fermentation, aimed at producing a nutritional supplement for food human. It was also assessed the influence of the yeast concentration - CL and temperature - T of the crude protein - CP and increasing protein - AP, using tray type bioreactor. The test results showed that the fermentation temperature was a variable that showed no statistically significant influences on the responses studied unlike CL that was statistically significant on the CP content and AP at 95% confidence. The highest percentage of PB and AP were obtained at a concentration of 10% yeast and 30°C with 72h of fermentation. In these fermentation conditions performed in the bioreactor reached 17,91% crude protein, which an AP is around 2.07 times. The chemical composition of forage palm and cashew bagasse sprouts in the ratio of 1:1 can be used as a nutritional supplement for human consumption, as an alternative low-cost production. The water activity of the mixture stood at around 0.37 very close to the ideal range of water activity between 0.25-0.35 that is unfavorable to the growth of microorganisms.

Keywords: Protein enrichment, Biotechnology, Cactus, Waste.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1	Bagaço de caju	34
Figura 3.2	Brotos de palma forrageira	34
Figura 3.3	Acondicionamento do bagaço do caju	35
Figura 3.4	Acondicionamento de Brotos de palma forrageira	36
Figura 3.5	Mistura Brotos de palma e bagaço de caju	36
Figura 3.6	Etapas do processo de enriquecimento nutricional	40
Figura 4.1	Acompanhamento cinético do aumento de proteína bruta da mistura, correspondente ao ensaio 1: T = 30 °C e CL = 4 %.	49
Figura 4.2	Acompanhamento cinético do aumento de proteína bruta da mistura, correspondente ao ensaio 2: T = 30 °C e CL = 10 %.	49
Figura 4.3	Acompanhamento cinético do aumento de proteína bruta da mistura, correspondente ao ensaio 3: T= 36 °C e CL = 4 %.	50
Figura 4.4	Acompanhamento cinético do aumento de proteína bruta da mistura (bagaço de caju e brotos de palma forrageira), correspondente ao ensaio 4: T =36 °C e CL = 10 %.	51
Figura 4.5	Acompanhamento cinético do aumento de proteína bruta da mistura, correspondente ao ensaio 5: T = 33 °C e CL = 7 %.	51
Figura 4.6	Acompanhamento cinético do aumento de proteína bruta da mistura (bagaço de caju e brotos de palma forrageira), correspondente ao ensaio 6: T = 33 °C e CL = 7 %.	52
Figura 4.7	Acompanhamento cinético do aumento de proteína bruta da mistura, correspondente ao ensaio 7: T = 33 °C e CL = 7 %	53
Figura 4.8	Acompanhamento cinético do aumento de proteína bruta da mistura, correspondente aos ensaios 1,2,3 e 4: T = 33 °C e CL = 7 %	53
Figura 4.9	Acompanhamento cinético do aumento de proteína bruta da mistura, correspondente ao ponto central. Experimento 5, 6 e 7.	54
Figura 4.10	Diagrama de Pareto dos efeitos da variável independente (CL) sobre a variável reposta Aumento Proteico (AP).	55
Figura 4.11	Superfície de resposta para aumento proteico em função da concentração de levedura e temperatura.	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1	Composição bromatológica do cultivar Palmepe PB1 versus Palma Gigante	20
Tabela 2.2	Características do cajueiro CCP – 76 nas condições da Mata Paraibana.	22
Tabela 2.3	Produtividade da castanha e de pedúnculo do cajueiro CCP – 76, nos primeiros anos.	23
Tabela 3.1	Valores codificados e reais das variáveis de entrada	39
Tabela 3.2	Matriz de planejamento fatorial completo 22 + 3 para o enriquecimento proteico	39
Tabela 3.3	Composição centesimal da mistura enriquecida e desidratada	41
Tabela 4.1	Caracterização físico-química das matérias primas	42
Tabela 4.2	Resultado das análises microbiológicas do produto fermentado seco nas condições correspondente ao experimento 2 (T = 30 °C, CL = 10 % e tempo t = 72 h).	47
Tabela 4.3	Variação de proteína bruta (PB) e aumento proteico (AP) expresso em base seca da mistura (bagaço de caju e brotos de palma) durante as 96 horas de fermentação.	48
Tabela 4.4	Variáveis independentes, variáveis resposta, tempo e o maior valor obtido para (PB) e (AP) nos ensaios do processo fermentativo da mistura nas 96 horas de fermentação	55
Tabela 4.5	Análise de variância para a variável resposta Aumento Proteico (AP).	56
Tabela 4.6	Composição centesimal da mistura enriquecida e desidratada	59
Tabela 4.7	Composição mineral da mistura enriquecida e desidratada.	60
Tabela 4.8	Resultado das análises microbiológicas da mistura enriquecida e desidratada nas condições correspondente ao experimento 2 (T = 30 °C, CL = 10 % e tempo t = 72 h).	63

LISTA DE ABREVIATURAS E/OU SIGLAS

ANVISA	-	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AP	-	Aumento Proteico
AR	-	Açúcar Redutor
Aw	-	Atividade de água
b.s.	-	Base Seca
b.u.	-	Base Úmida
Cel.	-	Celulose
CL	-	Concentração de Levedura
CHT	-	Carboidratos Totais
CNE	-	Carboidratos não-estruturais
CNF	-	Carboidratos não-fibrosos
CZ	-	Cinzas
EMEPA	-	Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba S.A.
FAO	-	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
Fcal	-	F calculado
FDA	-	Fibra em Detergente Ácido
FDN	-	Fibra em Detergente Neutro
FSS	-	Fermentação semissólida
Ftab	-	F tabelado
(G)	-	Palma Gigante
GB	-	Gordura Bruta
(I)	-	IPA-20
IBRAF		Instituto Brasileiro de Frutas
Lig.	-	Lignina
(M)	-	Palma Miúda

MAPA	-	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MM	-	Matéria mineral
MO	-	Matéria Orgânica
MS	-	Matéria seca
MS	-	Ministério da Saúde
N	-	Nitrogênio
OMS	-	Organização Mundial da Saúde
ONU	-	Organização das Nações Unidas
PB	-	Proteína Bruta
pH	-	Potencial Hidrogeniônico
(R)	-	Palma Redonda
R ²	-	Regressão
SST	-	Sólidos Solúveis Totais (°Brix)
T	-	Temperatura
UD	-	Umidade

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	16
1.1.	OBJETIVOS	18
1.1.1.	<i>OBJETIVO GERAL</i>	18
1.1.2.	<i>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</i>	18
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1.	PALMA FORRAGEIRA	19
2.2.	CAJU	21
2.3.	FERMENTAÇÃO SEMISSÓLIDA (FSS)	23
2.3.1.	<i>FATORES ENVOLVIDOS NO PROCESSO DE FSS</i>	25
2.3.1.1.	SUBSTRATO	26
2.3.1.2.	TEMPERATURA	26
2.3.1.3.	PH	27
2.3.1.4.	AERAÇÃO	27
2.3.1.5.	UMIDADE E ATIVIDADE DE ÁGUA	28
2.3.1.6.	MICROORGANISMO	29
2.4.	ESTADO DA ARTE SOBRE ENRIQUECIDOS PROTEICOS	29
2.5.	APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS E CACTÁCEA PARA ALIMENTAÇÃO HUMANA	32
3.	MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1.	AQUISIÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA	34
3.2.	PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA	35
3.3.	MICROORGANISMO UTILIZADO	37
3.4.	CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS E DA MISTURA	37
3.5.	ESTUDO DO ENRIQUECIMENTO PROTEICO USANDO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL FATORIAL	38
3.6.	CARACTERIZAÇÃO DA MISTURA ENRIQUECIDA E DESIDRATADA	41
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42

4.1.	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS MATÉRIAS PRIMAS.....	42
4.2.	ENRIQUECIMENTO PROTEICO DA MISTURA.....	47
4.3.	AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DO PROCESSO DO ENRIQUECIMENTO PROTEICO DA MISTURA 54	
4.4.	COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E MINERAL DA MISTURA ENRIQUECIDA E DESIDRATADA....	59
4.5.	DETERMINAÇÃO DE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DA MISTURA ENRIQUECIDA E DESIDRATADA	62
5.	CONCLUSÕES	64
6.	SUGESTÕES.....	65
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66

1. INTRODUÇÃO

Os descartes de alimentos pelas indústrias de transformação, especificamente os realizados pelas indústrias de processamento de alimentos, seja para consumo humano e/ou animal, revela uma realidade há muito tempo constatada: um grande desperdício com o não reaproveitamento da grande quantidade de resíduos gerados. Esses desperdícios, quando gerados por empresas processadoras e/ou distribuidoras de frutas, legumes e verduras, são bastante significativos (MACCARINI 2013).

Segundo Pelizer (2007), a crescente preocupação com o meio ambiente é outro fator que vem mobilizando vários segmentos do mercado. Em todo o mundo as instituições governamentais bem como as indústrias estão se mobilizando para aplicar uma política ambiental, visando diminuir os impactos ambientais gerados pelas indústrias. É imperativo que todo o resíduo tenha um tratamento ou uma destinação adequada, para não gerar danos ambientais.

O Brasil é o terceiro maior produtor de frutas no mundo, com uma produção em 2013 de 43,6 milhões de toneladas de frutas, segundo o Instituto Brasileiro de Frutas IBRAF (2015). Um dos principais motivos para isso é o fato de o país ser favorecido com terras propícias à produção de frutas, sendo até hoje um dos maiores segmentos da economia nacional, respondendo por mais de 35% da nossa produção agrícola. Também ressalta que nossa região se destaca na produção de frutas e dentre estas o caju. Informa ainda que o pedúnculo do caju possui alto valor nutritivo por ser rico em Vitamina C, apresentando uma quantidade de 4 a 5 vezes maior que o teor de Vitamina C da laranja. Todavia, constata-se que ele é bastante perecível. Mesmo assim o pedúnculo é pouco explorado em razão da grande facilidade que a produção de caju é absorvida sendo a sua produção voltada principalmente com relação ao aproveitamento da castanha e o pedúnculo tido como resíduo.

A palma consolidou-se no Semiárido nordestino como forrageira nos diversos sistemas de produção pecuária. No entanto, é uma planta de enorme potencial produtivo e de múltiplas utilidades, podendo ser usada na alimentação humana, na produção de medicamentos, cosméticos e corantes, na conservação e recuperação de solos, cercas vivas, paisagismo, além de uma infinidade de usos. É a planta mais explorada e distribuída nas zonas áridas a semiáridas do mundo, contudo

sua real dimensão produtiva ainda não foi plenamente definida, (Lopes, 2007). Salienta o pesquisador que na alimentação humana, em vários países, os brotos tenros são usados como verdura para a preparação de saladas e refogados, e quando mais velhas, parcialmente lignificados, são usados na produção de farinhas e outros produtos. As flores são usadas como verduras, os frutos são consumidos *in natura* ou na preparação de sucos, vinhos, licores e geleias, conforme citação de Dessimoni, Batista, Barbosa, Dessimoni-Pinto, 2014).

Processos biotecnológicos têm sido utilizados como uma poderosa e eficiente ferramenta para obtenção de novos produtos destinados à alimentação humana e animal, principalmente com o reaproveitamento de resíduos das indústrias de processamento de polpa de frutas (bagaço de caju, maracujá, casca de abacaxi, dentre outras). A utilização do processo de Fermentação Semissólida na bioconversão de resíduos contribui na promoção de agregar valor nutricional a esses resíduos, porquanto aumenta o quantitativo desses nutrientes presentes como: proteínas, Vitaminas, minerais e conseqüentemente seu valor energético.

Fundamentado nestas informações este estudo visa à redução do desperdício de matérias primas tidas ainda hoje como resíduos pela maioria das indústrias de beneficiamento de polpas de frutas, como é o caso do bagaço de caju, que podem ser reaproveitados na elaboração de outros produtos para consumo humano e utilizar matérias primas nativas, como brotos de palma, do semiárido nordestino brasileiro como uma alternativa de emprego e renda para os mesmos.

De forma indireta pretende-se contribuir para minimizar os efeitos indesejados causados pelos danos ambientais gerados por resíduos das indústrias de processamento de alimentos quando este não tem um destino apropriado.

1.1. Objetivos

1.1.1. *Objetivo Geral*

Estudar o enriquecimento nutricional da mistura bagaço de caju e brotos de palma forrageira, por processo biotecnológico, para uso na alimentação humana.

1.1.2. *Objetivos Específicos*

- Fazer a caracterização físico-química das matérias-primas brotos de palma, bagaço de caju e da mistura, no estado *in natura*;
- Utilizar o delineamento experimental (planejamento fatorial $2^2 + 3$) no estudo do enriquecimento proteico utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, e avaliar os efeitos das variáveis de entrada (temperatura e concentração de levedura) sobre a variável resposta (aumento proteico);
- Caracterizar o material enriquecido e seco;
- Avaliar o produto sob o aspecto microbiológico.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Palma forrageira

De acordo com Campos (2005), a palma redonda (*Opuntia stricta*) é descrita como planta que apresenta um porte mais baixo que a palma gigante, se desenvolve na forma de touceira e tem caule muito ramificado. A palma *Nopalea cochenilifera* Salm-Dyck, popularmente conhecida como palma doce, é mais palatável que as outras; é a única resistente à praga da cochonilha do carmim e a de maior valor nutritivo dentre as cactáceas cultivadas no Nordeste.

A palma, independente do gênero, apresenta baixos teores de matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido.

A palma (*Nopalea cochenilifera* Salm-Dyck) por ser uma das mais cultivadas em nossa região e semiárido nordestino se destaca pelas seguintes razões:

- Podem ser multiplicadas por mudas;
- Pouco exigentes em água;
- Possuem porte pequeno, caule muito ramificado; e,
- Mais palatável e nutritiva do que as demais espécies.

É uma das espécies que mais se sobressaem no semiárido paraibano, devido à sua grande rusticidade e elevado potencial de produção de forragem e alto valor nutritivo, com grande disponibilidade de água se comparada com a vegetação nativa (Gusmão, 2011).

As principais características morfológicas, biológicas e/ou fisiológicas, conforme portaria nº 294/98 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA, torna possível a identificação do cultivar Palmepa PB1 (um clone da palma *Nopalea cochenilifera* Salm-Dyck também conhecida popularmente como palma doce ou miúda) são:

- Plantas de porte médio bem conformado;
- Cladódios (raquetes) elípticas ou ovoides;
- Os cladódios são de cor verde-claro;
- Cladódios lisos e glabros (sem pelos) /espinhos) distribuídos na forma de taça;

- Apresentam tamanho grande e médio (50 X 30 cm, 30 X 20 cm, 20 X 10 cm);
- São uniformes.

Essa cultivar (Palmepa PB1), em comparação com a palma gigante, apresenta na sua composição bromatológica algumas diferenças, tais como apresentadas na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 – Composição bromatológica do cultivar Palmepa PB1 versus Palma Gigante

Cultivares	Composição (%)									
	MS	UD	CZ	MO	PB	GB	FDN	FDA	Cel.	Lig.
Gigante	3,46	96,54	23,69	76,31	8,64	1,34	28,56	23,73	18,00	5,73
Palmepa PB1	4,14	95,86	31,53	68,47	11,60	1,87	28,36	17,62	15,02	2,60

% de MS = Matéria seca, UD = Umidade, CZ = Cinzas, MO = Matéria Orgânica, PB = Proteína Bruta, GB = Gordura Bruta, FDN = Fibra em Detergente Neutro, FDA = Fibra em Detergente Ácido, Cel. = Celulose, Lig. = Lignina.

Fonte: Lopes *et al.* (2009)

Cândido Filho *et al.* (2014) comentam que o cladódio ideal para o consumo humano deve apresentar características como tamanho semelhante a palma da mão de uma pessoa adulta, cor verde brilhante, sem espinhos, facilmente quebrável quando dobradas, o que significa está fresca para o uso.

Em grande parte do mundo, a palma forrageira é usada na alimentação humana, na ração animal e como fonte de energia;

É utilizada na medicina, na indústria de cosméticos, na proteção e conservação de solos, e outros usos nobres tais como: fabricação de adesivos, colas, fibras para artesanato, papel, corante, mucilagem, antitranspirante e ornamentação em paisagismo.

2.2. Caju

O cultivo do cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) é uma boa opção agrícola para a região do semiárido Paraibano, pois está climaticamente adaptado, com grande expressão socioeconômica. Seu fruto e pseudofruto podem originar produtos de grande valor nutricional e econômico, bastando para isso ser devidamente processados.

De acordo com Pinho (2009), o pseudofruto do cajueiro é a parte polposa que corresponde cerca de 10 (dez) vezes o peso da castanha que vem a ser o verdadeiro fruto do cajueiro. Este apresenta alto valor nutritivo, muito rico em Vitamina C (cerca de 156 – 378mg/100g). A quantidade de açúcar não redutor é pequena enquanto o açúcar redutor é encontrado em maior quantidade. É rico em minerais, tais como: cálcio, ferro e fosforo. Além disso, também encontramos compostos fenólicos como taninos, carotenoides e antocianinas, pigmentos naturais responsáveis pela sua coloração. É estimado que 80% do pedúnculo são desperdiçados, apesar de ser uma inestimável fonte de nutrientes e ainda havendo diversas possibilidades de aproveitamento industrial desse pedúnculo. O processamento do suco é o mais representativo, gerando como resíduo a película e a fibra ou bagaço e muitas vezes simplesmente utilizados como ração animal ou na forma de fertilizantes.

Estima-se que o aproveitamento industrial do processamento do caju seja realizado principalmente na região Nordeste do Brasil. Esse aproveitamento visa, basicamente, o beneficiamento da castanha e, em menor escala, o aproveitamento do pedúnculo. Mesmo considerando o aproveitamento do pedúnculo sob a forma de sucos, doces, geleias, néctares, farinhas e fermentados, só 15% da produção do pedúnculo é utilizada, sem falar do bagaço. Uma das causas para esse baixo aproveitamento está relacionada ao tempo de deterioração do pedúnculo, que ocasiona excessivas perdas no campo e na indústria Campos (2003, 2005).

O bagaço do pedúnculo de caju submetido a enriquecimento proteico, por leveduras, através da fermentação semissólida, já vem sendo utilizado com sucesso, por apresentar diversas vantagens quando comparado ao processo de fermentação submersa devido a seus aspectos físico-químicos, especialmente sua reduzida atividade de água, o que torna o processo mais produtivo, além de requerer baixo

investimento de capital e energia e praticamente não produzir resíduos Campos (2003, 2005).

Com relação à cultivar CCP 76 (*Anacardium occidentale L*) suas características, segundo a EMEPA/PB (2010) são:

- Tem preferência por regiões de alta temperatura (média 27 °C e precipitações entre 800 a 1.500 mm anuais);
- É sensível ao frio e geadas podendo apresentar redução de floração e frutificação nessas condições;
- Tem preferência por solos com boa fertilidade, textura média a arenosa, profundos, bem drenados com pH em torno de 6,5;
- O espaçamento deve ser de 7 X 7 m;
- Recomenda-se plantar as mudas em covas nas dimensões 30 X 30 X 30 cm e poda severa nos ramos para redução do porte da planta, limpeza e arejamento;
- O clone também é conhecido popularmente como cajueiro de seis meses, pelo seu porte baixo, altura inferior a 4 m. O peso da castanha varia de 3 a 19 g e o pedúnculo de 20 a 160 g.

Nas condições climáticas específicas da Mata Paraibana este clone apresentou, no seu terceiro ano de idade, as seguintes características de acordo com a Tabela 2.2:

Tabela 2.2 – Características do cajueiro CCP – 76 nas condições da Mata Paraibana.

Características	Valor Médio
Altura da Planta (m)	2,75
Diâmetro da copa (m)	7,00
Peso do Pedúnculo (g)	134,65
Peso da Amêndoa (g)	8,90
Peso da castanha (g)	2,30
Relação da amêndoa/castanha	25,80
SST (°Brix)	11,60
Acidez titulável (%)	0,28
Ph	4,63
Vitamina C (mg/100g de MF ¹)	240,44
Taninos oligoméricos (%)	0,26

Fonte: EMEPA/PB (2010)

Julga-se necessário informar, também, uma característica com relação à produtividade de castanha e de pedúnculo do cajueiro CCP – 76, nos três primeiros anos, conforme Tabela 2.3.

Tabela 2.3 – Produtividade da castanha e de pedúnculo do cajueiro CCP – 76, nos primeiros anos.

Produtos	Produtividade (kg/ha)		
	1º ano	2º ano	3º ano
Castanha	135	1.387	2.566
Pedúnculo	1.198	10.957	20.271

Fonte: EMEPA/PB (2010)

2.3. Fermentação semissólida (FSS)

Fermentação semissólida, é o processo que se refere à cultura de microrganismos sobre partículas em uma matriz sólida, onde o conteúdo líquido está a um nível de atividade de água que assegure o crescimento e o metabolismo das células, e não exceda à máxima capacidade de ligação da água com a matriz sólida Schmidell *et al.* (2001).

Moraes (2001) definiu fermentação semissólida como um processo microbiano que se desenvolve na superfície de materiais sólidos, que apresentam a propriedade de absorver ou de conter água.

Pandey (2003) define a fermentação semissólida como a fermentação que envolve substratos sólidos em uma mínima presença (ausência) de água livre; desde que o substrato possua umidade necessária para garantir o crescimento e metabolismo de microrganismos.

Diversos substratos têm sido enriquecidos proteicamente por fermentação semissólida: pedúnculo de caju (CAMPOS, 2003); resíduos de abacaxi (SUHET, 1999), (CORREIA, 2004), (OLIVEIRA, 2007); casca de maracujá (OLIVEIRA, 2007); farelo de arroz (MORAES, 1999); mandacaru (ARAÚJO, 2004), (ALMEIDA, 2007); vagens de algaroba e palma forrageira (PERAZZO NETO, 1999) e palma forrageira (PERAZZO NETO, 1999), (ARAÚJO, 2004) (CAMPOS, 2005).

Segundo Mitchell, Von Meien e Krieger (2002), a aplicação comercial da FSS pode ser classificada em dois tipos:

- Aplicações socioeconômicas (compostagem de resíduos, valorização de produtos lignocelulósicos e fibras alimentares) e;
- Aplicações economicamente lucrativas, tais como, a produção de enzimas, ácidos orgânicos e alimentos fermentados.

Segundo os autores Bramorski (1997) e Lu, Maddox e Brooks (1998), as vantagens da fermentação semissólida sobre a fermentação submersa são:

- O meio é geralmente simples, consistindo de resíduos agrícolas não refinados que podem conter todos os nutrientes necessários para o crescimento do microrganismo. O pré-tratamento, se houver, pode ser simplesmente um cozimento com água para umidificar ou dilatar o substrato, quebra do substrato na superfície para aumentar a acessibilidade aos nutrientes internos ou a moagem de grandes blocos de substrato para partículas menores;
- Tratamento de efluentes e disposição de resíduos é geralmente simples ou minimizado, em que o produto é utilizado, principalmente, se é intencionado o uso como suplementação alimentar;
- O custo reduzido de esterilização, pois se aquece menos água;
- O espaço ocupado pelo equipamento de fermentação é pequeno, levando-se em consideração o rendimento do produto, pois é utilizada menor quantidade de água e o substrato é concentrado;
- Sendo que a maioria das bactérias requerem altos níveis de mistura líquida, a FSS exclui, ou reduz, sensivelmente, a probabilidade da contaminação bacteriana;
- O meio é facilmente aerado, desde que haja espaço entre as partículas do substrato;
- A solubilidade e difusão de oxigênio e outros gases, são maiores na FSS;
- O resíduo remanescente possui um volume reduzido e este resíduo não apresenta condições para o desenvolvimento de patógenos;

- O único componente necessário a ser adicionado ao meio é água, embora, ocasionalmente, outros nutrientes como fonte de nitrogênio ou minerais possam ser adicionados;
- Torna-se possível a obtenção de esporos que são impossíveis de se obter em cultura submersa;
- Menor custo dos equipamentos;
- Exige menor demanda de energia;

Segundo os mesmos autores Bramorski (1997) e Lu, Maddox e Brooks (1998), as desvantagens da fermentação semissólida sobre a fermentação submersa são:

- Os microrganismos que podem ser usados são limitados, em função das condições do processo, tais como: baixa concentração de água livre. Os mais utilizados são fungos e algumas leveduras;
- Em operações de grande escala, o calor gerado pelo metabolismo microbiano deve ser removido, o que é mais difícil na FSS que no processo submerso;
- A transferência de oxigênio entre as partículas do meio pode se tornar um problema, quando se utiliza granulometria do substrato muito elevado;
- Medidas de pH, O₂, CO₂ e cálculo de rendimento de produto são mais complexos;
- O controle de temperatura é crítico e, muitas vezes, é necessário controlar a composição da atmosfera no que diz respeito a O₂, CO₂ e outros metabólitos voláteis;
- Contrariamente à simplicidade de operação da FSS, a heterogeneidade da mistura dificulta o controle de crescimento microbiano e de variáveis como agitação, aeração e concentração de nutrientes e produtos;
- Relativamente à produção de biomassa, fazem-na menor em FSS.

2.3.1. Fatores envolvidos no processo de FSS

A eficiência da conversão proteica por leveduras depende de vários fatores e dentre estes podemos citar: o substrato, temperatura, pH, aeração, umidade/atividade de água e o microrganismo. Portanto, um controle desses parâmetros será de suma importância para se obter um aumento proteico com bastante eficiência e eficácia.

2.3.1.1. Substrato

O substrato a ser utilizado para promover o enriquecimento proteico deve possuir características que venham a ser favoráveis no crescimento do Inoculo. Assim sendo, o mesmo necessita, antes do início do processo fermentativo propriamente dito, ser adequado próximo às condições requeridas pelo microrganismo a ser utilizado, para maximizar a atuação deste. Segundo relato de Almeida (2007), é necessário considerar:

- A granulometria para que proporcione uma maior área possível de contato com o microrganismo;
- O pH, proporcionando adequar à melhor condição de crescimento do inoculo;
- O teor de umidade;
- A altura da camada do substrato quando a FSS for em bandejas. Santos (2008) relata que a homogeneidade entre o substrato e o microrganismo é crucial na FSS, no sentido de aumentar o contato entre os mesmos, e;
- Santos (2008) também faz referência que o processo de troca de calor, transferência de oxigênio e o controle da umidade são fatores que terão forte influência durante o processo de fermentação semissólida.

2.3.1.2. Temperatura

Segundo Perazzo Neto (1999), a temperatura apresenta forte influência no crescimento microbiano, havendo uma temperatura ideal na qual o crescimento é máximo. Em processos fermentativos há a necessidade de observar a temperatura para que a mesma não se eleve demais prejudicando todo o processo.

Segundo apontam estudos realizados por Schimidell et al (2001), a grande quantidade de calor produzida durante o processo fermentativo pode estar associada às atividades metabólicas dos microrganismos e à altura da camada de substrato. Cita ainda que a grande quantidade de calor produzida durante o processo fermentativo pode estar associada às atividades metabólicas dos microrganismos e à altura da camada de substrato.

2.3.1.3. pH

Outro fator que merece ser considerado é o pH, porquanto o crescimento microbiano está intimamente ligado a este, muito embora o seu monitoramento, durante o processo de FSS, não seja fácil de ser realizado. Uma forma de amenizar o efeito de uma variação brusca do pH é com a utilização de substratos com boa capacidade tamponante ou a adição de soluções-tampão durante a etapa de umidificação, se houver, do substrato, segundo Santos (2007).

Sendo o pH uma variável importante no processo, há valores de pH mínimo, ótimo e máximo para o desenvolvimento de cada microrganismo.

Segundo Perazzo Neto (1999), geralmente os fungos preferem pH baixo e as bactérias pH próximos da neutralidade. De acordo com Franco (1996) os valores de pH ótimo para a multiplicação da *Saccharomyces cerevisiae* é entre 4 e 5. Holanda et al. (1997, 1998) estudando o enriquecimento proteico do pedúnculo de caju por *Saccharomyces cerevisiae*, constataram que em pH menor do que 3,5 pode ocorrer redução na eficiência da conversão proteica da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, embora este índice de acidez evite contaminação do meio por bactérias.

2.3.1.4. Aeração

Os microrganismos, para seu crescimento, necessitam basicamente de carbono, nitrogênio, minerais, água e, se for aeróbio, necessita de oxigênio para a formação da biomassa e estimular as reações de biossíntese e a sua manutenção celular. Santos (2007) e Correia (2004) relatam que a aeração na fermentação semissólida cumpre funções básicas, as quais são:

- Manter as condições aeróbicas;
- Regular a temperatura do substrato, e;
- Ajustar o nível de umidade.

Citam ainda que, na maioria do cultivo utilizando o sistema semissólido, este permite o livre acesso do oxigênio atmosférico ao substrato, pois o mesmo é capaz de se difundir pelo filme líquido superficial formado pelas partículas do substrato.

2.3.1.5. Umidade e atividade de água

Alcântara (2009, p. 82), nos dá uma definição bastante clara entre umidade e atividade de água:

umidade diz respeito à percentagem de água na massa total do meio. E a determinação do seu valor no processo está intimamente relacionada com a natureza do substrato, as necessidades do microrganismo utilizado e o tipo de produto final desejado citado também por Del Bianchi et al. (2001), e Pinto *et al.* (2006). A atividade de água indica se o microrganismo poderá crescer através da fermentação, garantindo a qualidade do produto. Santin (1996), em pesquisa realizada afirma que o crescimento dos microrganismos depende da atividade de água, em razão da influência da pressão osmótica sobre as trocas através das membranas (ALCÂNTARA, 2009, p. 82).

É importante salientar que a atividade de água tem grande influência no desenvolvimento microbiano e os processos bioquímicos, e que cada microrganismo tem uma faixa de atividade de água adequada ideal para que possa efetuar suas atividades metabólicas, segundo Ramana *et al.* (1993).

2.3.1.6. Microrganismo

Com relação ao microrganismo utilizado para promover o enriquecimento proteico em fermentação semissólida é salutar escolher aquele que mais se adapta ao substrato a ser utilizado. Araújo et al. (2009) relacionam as seguintes vantagens em utilizar a proteína de célula única como suplemento ou substituto alimentar:

- Os microrganismos crescem muito rapidamente e são produzidos em grandes quantidades;
- O conteúdo de proteína das células microbianas é muito alto, e;
- A porcentagem nas células leveduriformes varia de 40 a 50%, enquanto a carne e a soja apresentam 20 a 35% de proteína, respectivamente.

Destaca também que essas proteínas apresentam todos os aminoácidos essenciais e as leveduras, particularmente, têm alto conteúdo de Vitaminas. O autor evidencia ainda que a levedura é o mais utilizado microrganismo na indústria, sendo a *Saccharomyces cerevisiae* a mais conhecida cientificamente, sendo bastante atrativa para a produção comercial de proteína em virtude de fácil propagação e de não ter relação patogênica com o homem e o conteúdo de proteína das células microbianas é muito alto e, na maioria das vezes, elas contêm todos os aminoácidos.

2.4. Estado da arte sobre enriquecidos proteicos

Neste item serão apresentados alguns trabalhos desenvolvidos sobre produção de enriquecidos proteicos por fermentação em estado sólido utilizando diferentes substratos e microrganismos.

Os estudos com o uso de microrganismos em enriquecimento proteico já se realizam há algumas décadas. O Instituto de Tecnologia de Massachusetts em 1966 criou o termo “Single Cell Protein” (SCP), para descrever a ideia de microrganismo como alimento (Gibriel *et al*, 1981) e proteína unicelular (SCP) foi admitida de forma universal para designar as células microbianas cultivadas para serem destinadas à alimentação humana e de animais. O principal processo utilizado é a fermentação em meio semissólido (FSS), bastante comum no Oriente, na

produção de enzimas por meio de fungos, preparação de alimentos fermentados semelhantes a molho e preservação de alimentos (Crooke *et al.*, 1991)

Ziino *et al.* (1999) diz que as leveduras *S. cerevisiae* e *C. utilis* são particularmente interessantes devido ao seu alto conteúdo proteico, que pode chegar a mais de 50 %.

De um modo geral, as células microbianas contêm lipídios, vitaminas, minerais, carboidratos, além de nitrogênio não proteico, como os ácidos nucléicos, conforme demonstra Litchfield (1983). Este autor cita que estas contêm: tiamina, riboflavina, biotina, niacina, ácido pantotênico, colina, ácido fólico, entre outros componentes de alto valor nutricional.

Albuquerque (2003) utilizou o fungo *Rhizopus oligosporus* CCT 4134 para promover o enriquecimento proteico do bagaço de maçã, obtido através de resíduos da indústria de sucos, demonstrando grande potencialidade em seu uso para bioconversões em estado sólido, realizada em reatores de coluna, durante 72 h/ 30°C. O autor obteve um enriquecimento proteico de mais de 5 vezes sobre o teor proteico inicial do resíduo, em cultivo realizado dentro da faixa de pH considerada ótima para o fungo. O *Rhizopus oligosporus* CCT 4134 colonizou o substrato em pouco tempo, mostrando grande potencial na bioconversão do bagaço de maçã, chegando a produzir 30% de proteína na melhor condição de cultivo verificada. Cita ainda que, para o consumo de seres humanos, os principais microrganismos utilizados para a conversão proteica são *S. cerevisiae*, *Candida utilis*, *Spirulina* e *Chlorella* e que essas espécies são consideradas seguras e aceitas pela FAO para o consumo humano.

Campos *et al.* (2005) estudou o enriquecimento proteico do bagaço do caju utilizando o processo de fermentação semissólida, tendo como inoculo a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Observaram que o maior teor de proteína bruta obtida foi 20,25%, valor este conseguido com a adição de 12% de concentração de levedura e uma temperatura de fermentação de 33°C, após 28h de processo. Os resultados alcançados demonstraram que é viável a utilização desse processo biotecnológico, utilizando-se a levedura *Saccharomyces cerevisiae* para obtenção de um concentrado proteico, e tendo como substrato o bagaço de caju. Os autores desse estudo visaram contribuir para minimizar os desperdícios da produção e industrialização do pedúnculo de caju, bem como demonstrar que esse produto pode ser utilizado como fonte alternativa de alto potencial proteico em ração animal, tornando-se uma boa estratégia

para solucionar alguns dos problemas relacionados às limitações e desperdícios de alimentos.

Correia *et al.* (2007), utilizaram resíduos de abacaxi como substrato no estudo do enriquecimento proteico por FSS, com a utilização da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e concluíram que o teor proteico do resíduo aumentou mais que o dobro da proteína do resíduo no estado *in natura*. No mesmo estudo os autores, com a suplementação de nitrogênio (sulfato de amônia e ureia), após 48 h de fermentação, verificaram que com a adição de 2,5% de sulfato de amônia motivou em um aumento de quase quatro vezes do conteúdo inicial de proteína.

Almeida (2007) realizou estudos sobre o enriquecimento proteico do mandacaru com a utilização do *Aspergillus niger* e da *Saccharomyces cerevisiae* por fermentação semissólida. O maior aumento proteico encontrado utilizando o *Aspergillus niger* foi após 72h de fermentação em bandeja a uma temperatura de 30°C. Nessas condições o teor proteico encontrado foi de 76,9%. Para as fermentações realizadas em tambor rotativo com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* o teor de proteína bruta máximo alcançado foi de 23% após 10h de processo a temperatura de 25°C.

Oliveira (2007) estudou o enriquecimento nutricional por bioconversão de resíduos agroindustriais para utilização na alimentação animal. Resíduos de casca de maracujá e casca e coroa de abacaxi foram enriquecidos separadamente por *Saccharomyces cerevisiae* na FSS. O processo de FSS foi realizado em bandejas durante um período de 48h. O aumento proteico encontrado para os três resíduos foi em média de 2,40 vezes, em relação ao *in natura*. O autor concluiu que os resíduos alcançaram concentrações nutricionais que podem ser transformados em suplemento nutricional, sendo uma alternativa alimentar para os animais na época de escassez de alimento no semiárido.

Campos (2008) estudou a ampliação de escala do processo de enriquecimento nutricional da palma forrageira e avaliou a influência da adição de ureia associada à adição da levedura sobre o teor de proteína bruta e aumento proteico, com o uso de biorreatores de bandeja e tambor rotativo. Foi observado um aumento proteico em torno de 6 vezes nas fermentações realizadas nos dois biorreatores e alcançaram em média 45% de proteína bruta, com concentrações de 3% de leveduras e 5% de ureia. Vale ressaltar que o autor verificou que “os resultados

dos testes preliminares sugeriram que a temperatura de fermentação foi uma variável que não apresentou influências estatísticas sobre as respostas estudadas e que o maior AP foi encontrado após 24h de fermentação”.

Suhet e Fioreze (2011) estudaram a produção de proteína unicelular a partir do resíduo da industrialização do abacaxi utilizando fermentação em estado semissólido adicionado de 0,3% de ureia e sem adição do sal, com os fungos *Rhizopus oligosporus* e *Aspergillus niger*. Verificaram o efeito da ureia no aumento de proteína e no melhor tempo de fermentação e concluíram que a fermentação com ureia, no tempo de 72 horas, promoveu sobre o teor proteico inicial do resíduo um aumento de 2,72 vezes para *R. oligosporus* e de 2,88 vezes para *A. niger*. Neste estudo os autores salientam que diversos subprodutos (resíduos) agroindustriais têm sido usados como substratos para a produção de proteína unicelular, devido à grande disponibilidade local e por representarem uma fonte alternativa considerada ainda de baixo valor comercial. Os autores também mencionam que os processos tecnológicos sofisticados para produção de proteína unicelular não são comercialmente atrativos, especialmente em regiões mais carentes, por não serem favoravelmente econômicos diferentemente dos processos aqui apresentados com a utilização de biorreatores de baixo custo especificamente os de bandejas.

2.5. Aproveitamento de resíduos e cactácea para alimentação humana

O aproveitamento, de bagaço do pedúnculo de caju e brotos de palma forrageira para alimentação humana, encontra respaldo no sistema de gestão de Produção Mais Limpa que significa “a aplicação contínua de uma estratégia econômica, ambiental e tecnológica integrada aos processos e produtos, a fim de aumentar a eficiência no uso de matérias-primas, água e energia, através da não geração, minimização ou reciclagem de resíduos, com benefícios ambientais e econômicos para os processos produtivos” segundo definição UNIDO/UNEP(1995, 2001) citado por Mello (2002).

Os ambientalistas têm se preocupado com resíduos que, uma vez gerados, necessitam de um destino adequado, pois não devem ser acumulados indefinidamente nos locais onde foram produzidos.

Laufenberg (2003), cita que os resíduos podem conter muitas substâncias de alto valor. Com o uso adequado da tecnologia, o resíduo pode ser convertido em produtos comerciais ou matérias-primas para processos secundários. O mesmo autor salienta que é necessário um inventário completo, baseado numa visão holística da indústria de alimentos contendo dados sobre ocorrência, quantidade e utilização desses resíduos.

Essa preocupação com o meio ambiente tem levado vários pesquisadores a demonstrar a viabilização de projetos que levam à sustentabilidade do sistema de produção das indústrias de alimentos. Essa indústria produz uma série de resíduos com alto valor de reutilização. Incontáveis estudos utilizando resíduos industriais do processamento de alimentos têm sido realizados com objetivo de aproveitamento destes. Com isso, minimiza-se o impacto e ainda agrega valor aos produtos por elas colocados no mercado.

Segundo Chitarra e Chitarra (2005), o grande volume de perdas por descarte de resíduos evidencia a importância e a necessidade da ampliação e busca de novos conhecimentos relativos ao aproveitamento destes resíduos tendo como consequência a minimização de perdas pelo emprego de técnicas adequadas, trazendo um grande benefício a todos os segmentos da cadeia produtiva.

Desde a década de 1970 o aproveitamento de resíduos de certas frutas como matéria prima para a produção de alguns alimentos são comprovadamente possíveis de serem incluídos na alimentação humana como biscoitos, pães e bolos, segundo Vieira (2001).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Aquisição da matéria-prima

Neste estudo utilizou-se como matéria-prima o bagaço do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale L.*) e brotos de palma forrageira (*Nopalea cochenilifera Salm-Dyck*).

Os brotos de palma e os pedúnculos de cajus utilizados nesta pesquisa foram cedidos pela Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba S. A. - EMEPA, que é uma Empresa Pública vinculada à Secretaria de Agricultura e Abastecimento da Paraíba/PB.

Figura 3.1 – Bagaço de caju



Figura 3.2 – Brotos de palma forrageira



3.2. Preparo da matéria-prima

Os caju foram levados ao laboratório da referida estação e em seguida procedeu-se uma seleção e descartes de alguns frutos que apresentavam rachaduras.

Do caju, foi realizada a separação da castanha do pedúnculo o qual foi sanitizado em uma solução de hipoclorito de sódio na proporção de 20ml/L de água por 20 minutos. Após a sanitização, os caju foram enxaguados com água potável para eliminação do excesso de cloro residual.

Os caju foram despulpados em uma despulpadora de martelo e escovas, promovendo-se a retirada do suco e separação do bagaço, por duas vezes. O bagaço, Figura 3.3, foi acondicionado em sacos plásticos e vedado em uma máquina seladora. Foram colocados em um recipiente isotérmico, com gelo, e transportados para o Laboratório de Certificação de Cachaça na UFPB/CT, onde permaneceu armazenado em freezer a -18 °C.

Figura 3.3 – Acondicionamento do bagaço do caju



Os brotos de palma, Figura 3.4, após colheita, foram manuseados cuidadosamente e colocados em sacos plásticos fechados a temperatura ambiente e levados para o laboratório da estação da EMEPA. Em seguida, os brotos foram lavados em água corrente para remoção dos resíduos aderidos na superfície. Em seguida procedeu-se a sua sanitização utilizando-se solução de hipoclorito de sódio na proporção de 20 ml/L por 20 minutos.

Após esses procedimentos, os brotos de palma foram acondicionados em sacos plásticos, colocados em recipiente isotérmico, com gelo, e transportados até o Laboratório de Tecnologia de Alimentos do Centro de Tecnologia - CT/UFPB, onde foram triturados, acondicionados em sacos plásticos e armazenados em freezer a -18°C .

Figura 3.4 – Acondicionamento de Brotos de palma forrageira



Por último realizou-se a mistura desses brotos de palma forrageira e do bagaço de caju, na proporção 1:1, para promover o enriquecimento proteico da mesma, visando o consumo humano.

Figura 3.5 – Mistura Brotos de palma e bagaço de caju



3.3. Microrganismo utilizado

Nos processos fermentativos, em meio sólido, vários são os microrganismos utilizados, tanto em seu estado natural, quanto na sua forma de culturas puras individuais, e/ou na forma de culturas mistas segundo Gutierrez et al. (1992) e Pandey (1992). Um bom desempenho do processo fermentativo deve levar em consideração a escolha da linhagem do microrganismo, o meio de cultura e as condições ambientais da fermentação (temperatura e umidade do sistema), uma vez que a FSS tem obtido com sucesso vários tipos de transformação, seja ela realizada por fungos ou bactérias.

Raghavarao *et al.* (2003) salienta que vários microrganismos têm a capacidade de crescer em substrato sólido. Bactérias e leveduras crescem em substrato sólido com um teor de umidade entre 40-70%, como na compostagem ou na ensilagem aeróbica ou anaeróbica, mas o crescimento e propagação das células ricas em proteínas sempre necessitam de água livre.

No processo de enriquecimento nutricional podem ser citados, dentre muitos outros, o uso de outras culturas como *Rhizopus* (Suhet, 1997; Moraes, 1999; Albuquerque *et al.*, 2003), *Candida* (Canoilas, 1991), *Aspergillus* (Moraes, 1999; Oliveira et al, 2001) e *Saccharomyces* (Holanda *et al.*, 1998; Araújo et al, 2005; Campos, 2003; Correia *et al.*, 2007).

Utilizou-se a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, fermento biológico comercial, com 70% de umidade, por ser um microrganismo bastante atrativo para a produção comercial de proteína em virtude de seu baixo custo, de fácil propagação e de não ter relação patogênica com o homem.

3.4. Caracterização das matérias-primas e da mistura

As análises de umidade, cinzas, acidez, pH e Vitamina C foram realizadas no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Alimentos do Departamento de Nutrição da UFPB e a determinação de proteínas, no Laboratório de Tecnologia de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos da UFPB. A determinação de Açúcares redutores procedeu-se no Laboratório de Bioengenharia do

Departamento de Engenharia Química da UFPB. As análises foram feitas em base úmida e em triplicata.

Umidade, cinzas, acidez, pH, vitamina C, proteína bruta, açúcares redutores. Foram determinados através dos métodos descritos pelas Normas Analíticas do Instituto Adolf Lutz (IAL, 2008).

A a_w de água deste experimento foi medida através do LabMaster- a_w um medidor de atividade da água, ideal para utilização nas indústrias farmacêutica e alimentar devido ao fato de se poder controlar a temperatura e de ter uma elevada precisão ($\pm 0,003 a_w$).

As amostras da mistura do fermentado seco foram colocadas em células plásticas que acompanham o equipamento e levadas ao equipamento para determinação da atividade de água (a_w) na temperatura de 30 °C.

A amostra permaneceu no equipamento até que a leitura da atividade da água se estabilizasse. Este processo repetiu-se com 3 (três) diferentes amostras.

A determinação da proteína bruta na matéria seca do bagaço foi obtida através do método semi-micro Kjeldahl. Este método é baseado na determinação do nitrogênio total (nitrogênio inorgânico e orgânico) contido no meio e de um fator de correção que é transformado em proteína bruta. Este fator de correção está associado ao fato das proteínas terem um % de nitrogênio quase constante, em torno de 16%.

3.5. Estudo do enriquecimento proteico usando planejamento experimental fatorial

Com a finalidade de avaliar quantitativamente a influência das variáveis de entrada temperatura T (°C) e concentração de levedura CL (%), sobre a variável resposta, aumento proteico (AP), realizou-se ensaios conforme matriz de planejamento experimental fatorial $2^2 + 3$ pontos centrais.

A matriz do planejamento encontra-se na Tabela 3.1 e as variáveis utilizadas no planejamento fatorial na Tabela 3.2 mostram suas codificações e os níveis para cada variável. Os dados experimentais para a resposta, referentes aos diferentes tempos de coleta de amostras, foram submetidos a uma análise de regressão linear, utilizando o programa Statistica 5.0, para obter os coeficientes dos modelos.

Tabela 3.1 – Valores codificados e reais das variáveis de entrada

Variável	Nível -1	Nível 0	Nível +1
Temperatura (°C)	30	33	36
Concentração de Levedura (g/L)	4	7	10

Tabela 3.2 – Matriz de planejamento fatorial completo $2^2 + 3$ para o enriquecimento proteico

Experimentos	Variável 1		Variável 2	
	Valor codificado	Valor real T (°C)	Valor codificado	Valor real CL (%)
1	-1	30	-1	4
2	+1	36	-1	4
3	-1	30	+1	10
4	+1	36	+1	10
5	0	33	0	7
6	0	33	0	7
7	0	33	0	7

Os valores adotados para as variáveis em cada nível foram baseados nos valores estudados por Campos (2003), que estudou a influência da temperatura de fermentação 30, 33 e 36 °C e da concentração inicial de leveduras 8, 12 e 16% sobre o estudo do enriquecimento proteico do bagaço de caju e brotos de palma. Neste estudo os valores da concentração de levedura adotados foram reduzidos para 4,7 e 10%, com o intuito de tornar mais viável à transferência futura do processo produtivo para a sua execução por empreendedores, no sentido de diminuir os custos de produção.

Os sete experimentos foram conduzidos em biorreatores de bandeja com bordas de alumínio, com dimensões 17 × 15 × 8 cm, vazadas em tela também de alumínio visando proporcionar maior área para oxigenação do processo e facilitar o controle da temperatura. Para que não houvesse perda de produto, foi utilizado no fundo das bandejas uma malha de nylon mais fina. A altura da camada de substrato foi aproximadamente 3 cm.

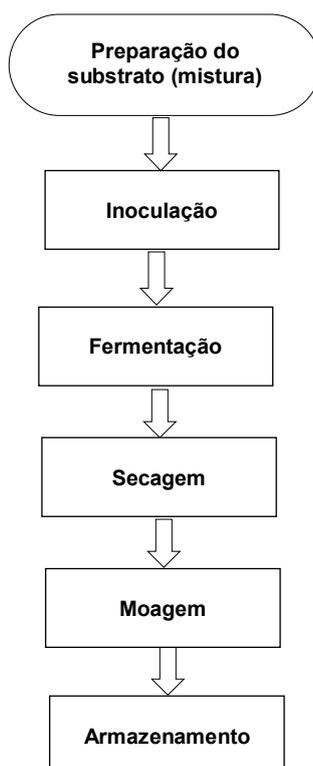
Foram utilizados 600 g de substrato por bandeja na proporção de 1:1 (50% de brotos de palma + 50% de bagaço de caju). Em seguida realizou-se a inoculação

com levedura *Saccharomyces cerevisiae* nas concentrações definidas no planejamento fatorial conforme Tabela 3.1. Durante todo o processo de fermentação em estado semissólido foi monitorado o aumento proteico AP nos tempos de 12, 24, 48, 72 e 96 horas.

Após as 96 horas de processo, procedeu-se a secagem do produto em estufa com circulação de ar a $55 \pm 2^\circ\text{C}$, nas mesmas bandejas, para minimizar possível contaminação do mesmo, até peso constante.

Após o processo de secagem, o produto foi triturado em moinho de bolas visando uma padronização granulométrica para o uso adequado do mesmo como suplemento alimentar humano ou ser adicionado a outros produtos alimentares no sentido de promover o enriquecimento nutricional destes. Finalmente, o produto foi envasado em potes de vidro devidamente fechados e armazenado a temperatura ambiente. As etapas do processo de enriquecimento nutricional da mistura de brotos de palma e bagaço de caju estão representadas fluxograma da Figura 3.6.

Figura 3.6 – Etapas do processo de enriquecimento nutricional



3.6. Caracterização da Mistura enriquecida e desidratada

A composição centesimal da Mistura enriquecida e desidratada, pode ser observada na Tabela 3.3, na qual todos os parâmetros são expressos em b.s.

Tabela 3.3. – Composição centesimal da mistura enriquecida e desidratada

Parâmetros	Mistura enriquecida e desidratada	
	Média	Desvio Padrão
Umidade %	7,196 ± 0,1782	
Cinzas %	4,877 ± 0,1754	
Proteína	17,91 ± 0,2610	
Lipídios	4,11 ± 0,0071	
Carboidratos %	63,55	-
Energia	362,90	-

Carboidratos (%) = 100 - (umidade + minerais + proteínas + lipídios)
Energia (kcal/100g) = [(carboidratos x 4) + (proteínas x 4) + (lipídios x 9)]

Observa-se que a mistura apresenta um teor de umidade de 7,196 %, (b.s.). Os resultados encontrados neste trabalho para umidade (b.s.) estão de acordo com os encontrados na literatura.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste item estão apresentados os resultados e a discussão referente à composição físico-química do bagaço de pedúnculo de caju, brotos de palma forrageira e da mistura desses materiais na proporção 1:1 para estudo do enriquecimento proteico da mistura com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* por fermentação semissólida.

4.1. Caracterização físico-química das matérias primas

Os resultados da caracterização físico-química das matérias primas, brotos de palma forrageira, bagaço de caju e a mistura destas podem ser observados na Tabela 4.1, na qual todos os parâmetros são expressos em base úmida.

Tabela 4.1 – Caracterização físico-química das matérias primas

Parâmetros	Brotos de Palma		Bagaço de caju		Mistura Bagaço + Palma (1:1)	
	Média ± Desvio Padrão		Média ± Desvio Padrão		Média ± Desvio Padrão	
Umidade %	90,41	± 0,34	72,16	± 0,72	82,20	± 0,66
Cinzas %	0,94	± 0,19	0,21	± 0,01	4,617	± 0,03
Vitamina C %	7,71	± 0,00	3,84	± 0,00	7,77	± 0,00
Acidez (mg/100g)	8,59	± 0,57	4,28	± 0,57	5,32	± 0,57
Ph	4,29	-	4,45	-	4,44	-
Proteína Bruta %	0,56	± 0,08	3,38	± 0,20	2,14	± 0,20
AR mg/g	8,20	± 0,01	39,07	± 0,41	22,43	± 0,19
FAT g	4,45	± 0,27	12,48	± 0,57	9,59	± 0,45

De acordo com os resultados descritos na Tabela 4.1 o broto de palma forrageira apresentou um alto teor de umidade, cerca de 9,43 % (b.s.), tendo em vista ser esta uma característica morfofisiológica das espécies da família Cactaceae compatível com estudos anteriormente já realizados.

Essa família é muito eficiente na utilização da água do solo, pois possui elevada capacidade de captação diária de CO₂ e reduzida perda de água, ou seja,

grande capacidade de retenção de água, Lopes *et al.* (2005). Segundo o mesmo autor o processo de fermentação semissólida aponta ser esse parâmetro o que tem maior influência no processo, pelo risco de contaminação, pouca propagação de oxigênio e trocas gasosas.

Para o enriquecimento proteico da palma forrageira, deve-se iniciar o processo com uma umidade acima de 90%, conforme estudos relatados por Araújo, *et al.* (2005), valor este que se enquadra ao resultado encontrado.

Com relação ao teor de proteína bruta da palma, Gomes (1977) e Perazzo Neto (1999) encontraram valores de 0,55 e 0,45% PB, expresso em base úmida. Os resultados encontrados nesse trabalho para proteína bruta (b.u.) estão de acordo com os registrados pelos autores.

Com relação ao teor de cinzas, o broto de palma possui valor em torno de 0,94% semelhante a outras espécies já estudadas. Porém, este valor se revela inferior a estudos realizados por Cantwell (2001) que encontrou teores de cinzas de 1,30% em brotos de palma jovens.

As cinzas variam em função do número de elementos minerais, da forma e da estreita relação destes com a química dos solos. O teor de cinzas obtido nos brotos de palma quando comparados aos de outras hortaliças frescas foram superiores, 0,30% da alface americana, 0,80% dos brócolis e 0,40% do pimentão verde entre outros como relatou Farias (2014).

O valor encontrado de cinzas nesta pesquisa foi duas vezes superior à do fruto da palma forrageira, de 0,44, relatado por Almeida (2007) provavelmente pelos fatores tais como: tipo de solo, local do cultivo, época do ano, espécie e estágio de desenvolvimento

A vitamina C está presente na maioria das espécies das cactáceas, em maior quantidade no seu fruto, mas também presente no cladódio (raquete), conhecido também como “verdura” em seu estado inicial de maturação. O conteúdo de vitamina C em frutas maduras varia de menos de 10 a mais de 40 mg /100 g de polpa entre as diferentes espécies de *Opuntia* segundo Pimenta, (1990).

A análise referente à acidez dos brotos da palma forrageira nos mostra um valor de 8,59%, sendo, portanto, um valor que não irá interferir de forma agressiva na ação da levedura, embora tenhamos de ter uma atenção ao pH nas massas de caju em fermentação que, ao acentuar-se ($\text{pH} < 3,5$), poderá causar prejuízo com a

consequente redução da eficiência de conversão proteica da levedura, embora o elevado índice de acidez previna a contaminação do meio por microrganismos como bactérias e outros, conforme avaliou Holanda *et al.* (1997, 1998), citado também por Almeida (2007).

A importância do pH assim como a temperatura, acidez e umidade em um processo de fermentação semissólida é fundamental para se obter uma maior eficiência de desenvolvimento da levedura no processo fermentativo.

O valor obtido neste experimento foi de 4,29, valor este ligeiramente superior ao obtido com o fruto do mandacaru por Almeida (2007) que foi de 4,10. Entretanto Franco *et al.* (1996) chegou à conclusão que os valores do pH ótimo para a multiplicação de *Saccharomyces cerevisiae* é entre 4 e 5, estando o valor encontrado nesta pesquisa dentro deste intervalo também citado por Coelho (2010).

O teor de proteína bruta dos brotos de palma foi de 0,56 %, que por sua natureza é muito pobre para ser usada em nutrição humana, necessitando, portanto, que se promova seu enriquecimento proteico. Na literatura observa-se valor superior conforme citado por Santos *et al.* (2013), em torno de 4,81 %, em estudos realizados com a palma forrageira da mesma espécie utilizada nesta pesquisa. Acredita-se que essa grande diferença seja devido a fatores como solo, tipo de cultivo dentre outros anteriormente já citados. Também em estudos realizados com esta espécie *Nopalea cochenillifera* encontraram valores que variam de 2,55 a 6,20% como aponta Lopes *et al.* (2007).

O teor de fibra alimentar total FAT na palma se revela bastante expressivo pois a matéria prima apresentou um indicador de 4,45 g.

Em relação ao bagaço de caju se constatou um elevado teor de umidade, cerca de 72,16%. Na literatura encontra-se valores muito próximos do bagaço de caju com o apresentado por Campos *et al.* (2005) que foi de 70,98 %.

O teor de cinzas do bagaço foi de 0,21% valor próximo ao encontrado em bagaço de caju no estudo realizado por Pinho *et al.* (2012) que foi de 0,26% em base úmida.

O caju é um dos frutos mais ricos em vitamina C com cerca de 156 – 387 mg/100g, conforme estudos realizados e relatados por Pinho (2009). Este mesmo pesquisador salienta ainda que a vitamina C é a mais sensível das vitaminas contidas nos alimentos por ser hidrossolúvel e também ser facilmente e rapidamente oxidada

pelo calor ocorrendo perdas entre 10% a 50%. Ainda a mesma pesquisa relata que o teor de Vitamina C pode ser indicador de qualidade dos alimentos, tendo em vista que pode variar no produto de acordo com as condições de cultivo, armazenamento e processamento conforme também registrado por Chitarra e Chitarra (2005).

Os resultados de Vitamina C encontrados para o bagaço de caju 5,0 mg/100g, foram baixos.

Galvão (2006) também encontrou valores muito baixos, de 4,50 mg/100g em resíduo de pedúnculo de caju em b.u., ou seja, valor bastante próximo ao obtido nesta pesquisa.

Quanto ao pH da mistura encontrou-se o valor médio de 4,39 considerado um valor bastante favorável a não proliferação de microrganismos.

Estudos realizados por Holanda *et al.* (1997, 1998) revelaram que o pH ideal para a multiplicação da *Saccharomyces cerevisiae* é no intervalo entre 4 e 5. O valor do pH neste experimento do bagaço de caju foi de 4,45 considerado um valor bastante favorável no sentido de favorecer o crescimento da *Saccharomyces cerevisiae*.

O teor de proteína encontrado no bagaço de caju, de 3,38%, foi superior ao determinado por Pinho *et al.* (2012) que foi de 2,07 %. Na mistura (bagaço + palma) o valor encontrado foi de 2,14 % também maior que o obtido na pesquisa realizada por Pinho *et al.* (2012).

Para os brotos de palma Pinho *et al.* (2012) salientam que o teor de proteína encontrado pode ser justificado pelo aumento das percentagens de celulose, hemicelulose e lignina, que ocorrem com o avanço do desenvolvimento ou aumento da idade dos brotos, reduzindo a proporção de nutrientes como carboidratos solúveis, proteínas e minerais, que conduzem a uma queda na digestibilidade do vegetal de acordo com pesquisa realizada por Velásquez *et al.* (2010).

O teor de fibra alimentar total do bagaço de caju é muito inferior ao encontrado na palma, quase 1/3 do total determinado (b.u.) de 12,48g.

Com relação à mistura de bagaço de caju e brotos de palma verificou-se que, os teores de umidade, acidez, pH e proteína bruta foram valores intermediários daqueles obtidos individualmente para o bagaço de caju e o broto de palma, exceto o percentual de cinzas e o teor de Vitamina C. O pH da mistura, 4,44 está adequado

para a levedura no processo de fermentação semissólida com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

O teor de fibra alimentar da mistura apresentou um melhor rendimento (b.u.) em torno de 9,59, valor este já esperado conforme as quantidades de cada uma das variedades.

A caracterização físico-química da mistura de bagaço de caju e palma forrageira é de fundamental importância, pois os resultados dessas análises servem de referência na avaliação do enriquecimento proteico realizado.

Também é importante destacar que a composição química dessa mistura (varia entre as diversas variedades destas, e mesmo entre amostras de uma mesma variedade em função, das condições do solo, do manejo das plantas, da idade e nível dos cladódios e da época do ano em que os mesmos são colhidos e submetidos à análise Santos (1989).

O percentual de umidade (b.u.) apresentado pela mistura estudada está entre os valores observados por Araújo (2004), Cavalcante e Cândido (2003), quando analisaram os cladódios da palma forrageira *in natura*, encontraram 90,7, 91,59 e 92,08% de umidade (b.u.), respectivamente, valor bem próximo ao determinado neste experimento.

A atividade de água do substrato tem bastante influência sobre o desenvolvimento microbiano em todos os processos bioquímicos. Entretanto vale salientar que, cada microrganismo tem um nível de atividade de água mínimo para que possa efetuar suas atividades metabólicas. Ramana *et al.* (1993) observaram que as leveduras necessitam de um meio com uma atividade de água mínima de aproximadamente 0,8 e para as bactérias 0,9. Santin (1996) comenta que a atividade de água indica a disponibilidade de água para o crescimento de microrganismos (deteriorantes ou não) e para a ocorrência de reações deteriorantes tais como: o escurecimento, a oxidação e a hidrólise.

A a_w da Mistura enriquecida e desidratada o valor médio determinado foi de $a_w = 0,379$ valor este muito próximo ao não favorecimento de crescimento microbiano.

Com relação ao teor de cinzas, a Mistura enriquecida e desidratada tem um valor em torno de 4,877% possivelmente devido a proporção de bagaço de caju. Este valor se revela superior a quase 4 vezes aos encontrados por Cantwell (2001).

A Tabela 4.2 mostra os resultados das análises microbiológicas obtidas do experimento que alcançou o maior aumento proteico obtido da Mistura enriquecida e desidratada, ou seja, na T 30 °C. CL de 10 % no t de 72 horas de fermentação.

Tabela 4.2 – Resultado das análises microbiológicas do produto fermentado seco nas condições correspondente ao experimento 2 (T = 30 °C, CL = 10 % e tempo t = 72 h).

ANÁLISES	RESULTADOS			PADRÃO/MAPA/MS (*) (**)
	A1	A2	A3	
Contagem de Bactérias	A1	A2	A3	
Coliformes a 45° C (NMP/g)	0,0	0,0	0,0	Máx. 1/g
<i>Bacillus cereus</i> /g	0,0	0,0	0,0	-
<i>Salmonella sp</i> em 25 g	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

(*) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento -MAPA - Instrução Normativa Nº 01, de 7 de janeiro de 2000, para polpa de fruta.

(**) Ministério da Saúde - Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos

Os resultados obtidos encontram-se dentro dos padrões da resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 para produtos desidratados.

4.2. Enriquecimento proteico da mistura

Os valores de proteína bruta e aumento proteico referente ao experimento realizado durante 96 h de fermentação encontram-se na Tabela 4.3 Nas Figuras 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6 e 4.7 estão representadas graficamente as variações dos percentuais de proteína bruta da mistura (bagaço de caju e brotos de palma forrageira) durante o processo fermentativo de acordo com o planejamento experimental definido.

Tabela 4.3 – Variação de proteína bruta (PB) e aumento proteico (AP) expresso em base seca da mistura (bagaço de caju e brotos de palma) durante as 96 horas de fermentação.

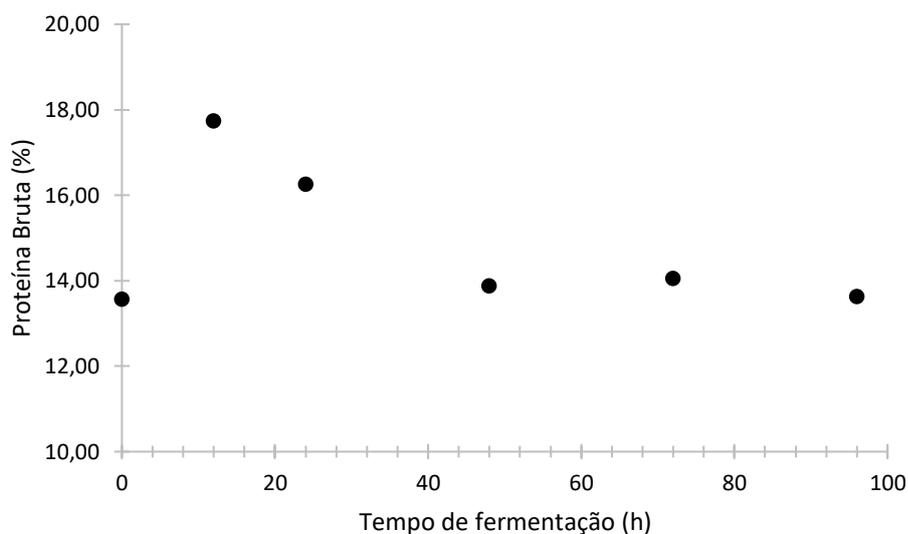
		Tempo de Fermentação (h)											
Tempo		0		12		24		48		72		96	
Exp.	<i>In natura</i>	PB	AP	PB	AP	PB	AP	PB	AP	PB	AP	PB	AP
		%		%		%		%		%		%	
1	8,63	13,56	1,57	17,48	2,03	17,40	2,02	13,87	1,61	14,05	1,63	13,62	1,58
2	8,63	16,67	1,93	14,67	1,70	16,50	1,91	17,07	1,98	17,91	2,07	16,46	1,91
3	8,63	12,09	1,40	11,19	1,30	12,30	1,43	13,44	1,56	12,38	1,43	12,33	1,43
4	8,63	16,85	1,95	17,01	1,97	16,63	1,93	16,76	1,94	17,61	2,04	16,90	1,96
5	8,63	14,49	1,68	14,83	1,72	15,03	1,74	15,42	1,79	14,85	1,72	15,69	1,82
6	8,63	15,71	1,82	15,31	1,77	14,79	1,71	16,99	1,97	15,49	1,79	15,53	1,80
7	8,63	14,87	1,72	16,45	1,91	15,10	1,75	15,82	1,83	15,11	1,75	15,85	1,84

Exp.= Experimento. PB = Proteína Bruta, AP = Aumento Proteico

As Figuras 4.1 a 4.7 apresentam o acompanhamento do processo de fermentação semissólida do enriquecimento proteico da mistura correspondente aos 7 experimentos realizados durante 96 horas de processo, com o objetivo de determinar o maior aumento proteico.

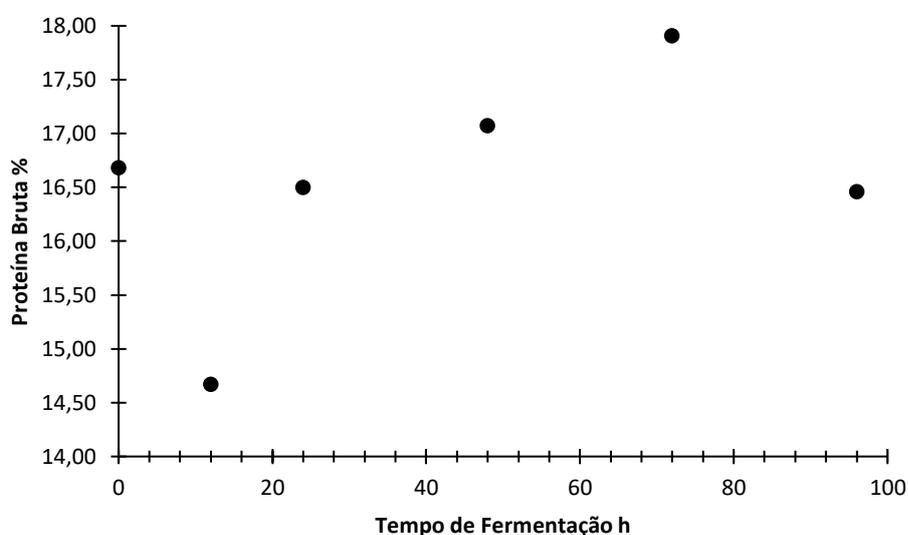
A Figura 4.1 mostra que o teor proteico do substrato aumentou nas primeiras 12 horas de fermentação atingindo um aumento proteico de 17,48 %. Em sequência sofreu linearmente um declínio até o tempo de 48h estabilizando a partir de então ao longo do restante do tempo máximo de fermentação. Este experimento foi realizado a uma temperatura de 30 (°C) e uma concentração de levedura de 4 %.

Figura 4.1 – Acompanhamento cinético do aumento de proteína bruta da mistura, correspondente ao ensaio 1: T = 30 °C e CL = 4 %.



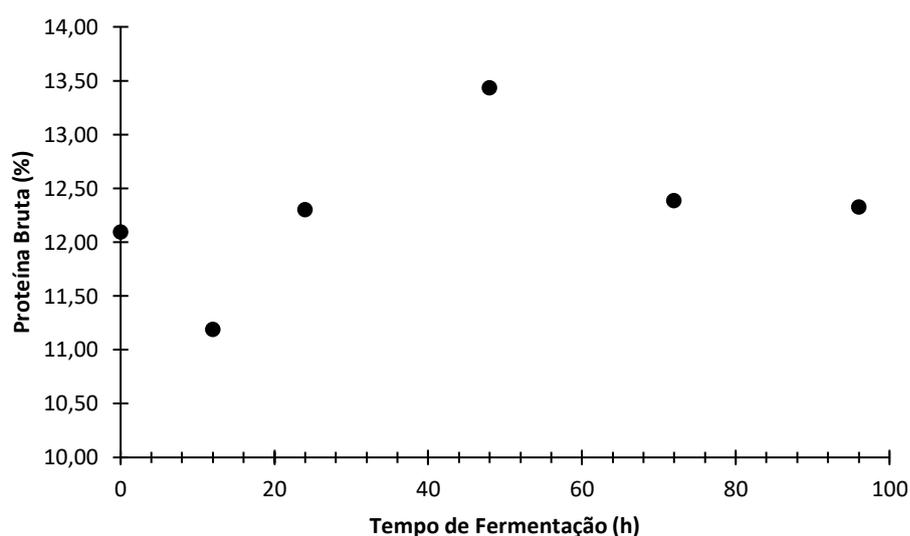
A Figura 4.2 o teor proteico nas primeiras 12 horas diminuiu. Entretanto após esse tempo ocorreu um aumento linear até 72h onde se obteve o maior percentual de crescimento proteico cerca de 17,91% representando um aumento proteico (AP) de 2,07. Este experimento foi realizado a uma temperatura de 30 °C e uma concentração de levedura de 10 %.

Figura 4.2 – Acompanhamento cinético do aumento de proteína bruta da mistura, correspondente ao ensaio 2: T = 30 °C e CL = 10 %.



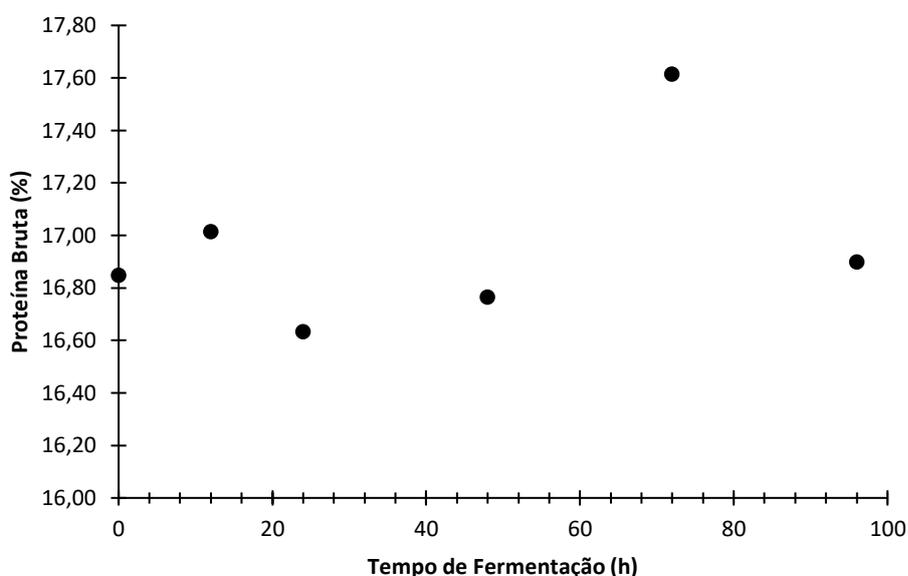
A Figura 4.3 ocorreu também um decréscimo do percentual de proteína inicial atípico nas primeiras 12 horas. Em seguida ocorreu um crescimento linear até 48h de fermentação e uma leve diminuição até as 96h do processo fermentativo, podendo-se dizer que permaneceu praticamente constante o crescimento proteico entre as últimas 72 a 96h. Este experimento foi realizado a uma temperatura de 36 °C e uma concentração de levedura de 4 %.

Figura 4.3 – Acompanhamento cinético do aumento de proteína bruta da mistura, correspondente ao ensaio 3: T= 36 °C e CL = 4 %.



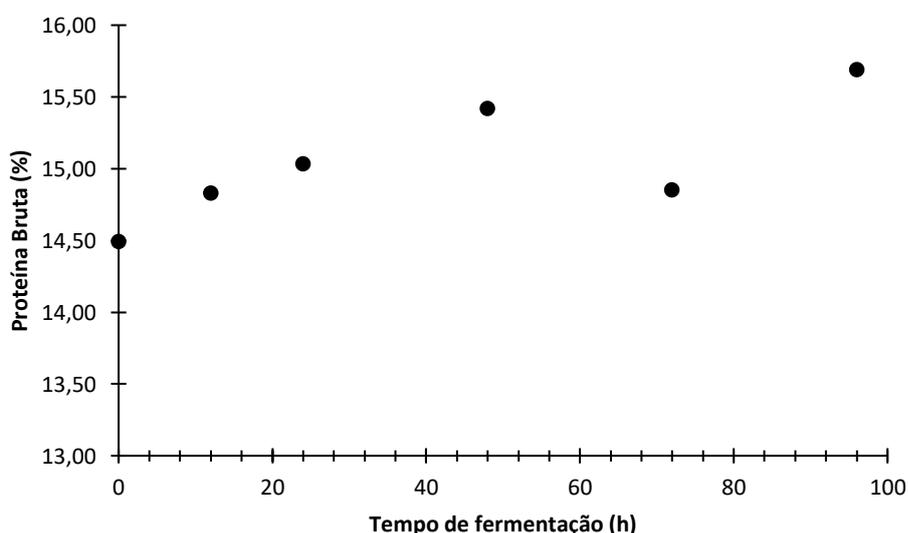
Na Figura 4.4 houve um aumento linear a partir das 24h de fermentação e uma discreta elevação no tempo de 72h, praticamente um crescimento constante e linear durante todo o processo fermentativo ao longo das 96h, alcançando índices bastante satisfatórios ao longo de todo o tempo de fermentação. Este experimento foi realizado a uma temperatura de 36 °C e uma concentração de levedura de 10 %.

Figura 4.4 – Acompanhamento cinético do aumento de proteína bruta da mistura (bagaço de caju e brotos de palma forrageira), correspondente ao ensaio 4: T = 36 °C e CL = 10 %.



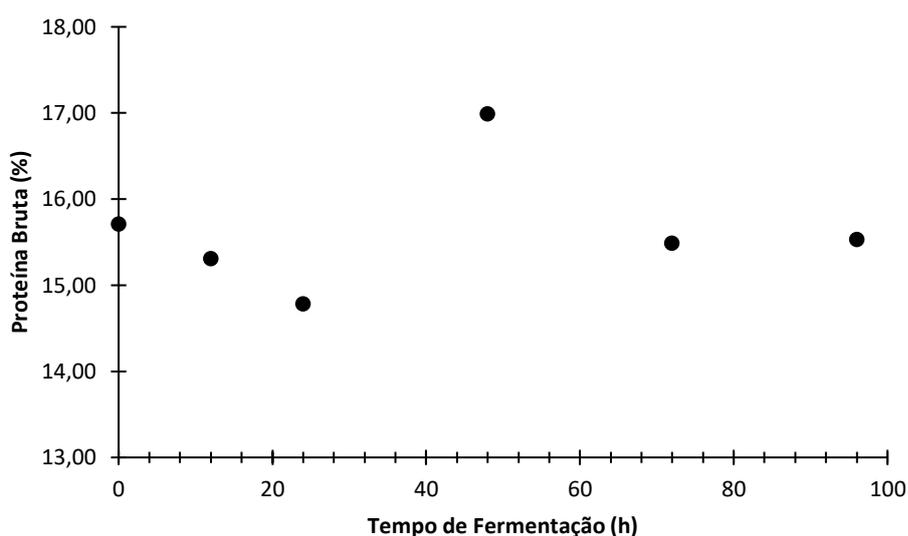
Na Figura 4.5, percebe-se que houve um aumento linear discreto e praticamente constante durante todo o processo fermentativo ao longo das 96h alcançando índices bastante satisfatórios, cerca de 15% ao longo de todo o tempo de fermentação, podendo-se dizer que permaneceu constante o crescimento proteico nas 96mh. Este experimento foi realizado a uma temperatura de 33°C e uma concentração de levedura de 7%.

Figura 4.5 – Acompanhamento cinético do aumento de proteína bruta da mistura, correspondente ao ensaio 5: T = 33 °C e CL = 7 %.



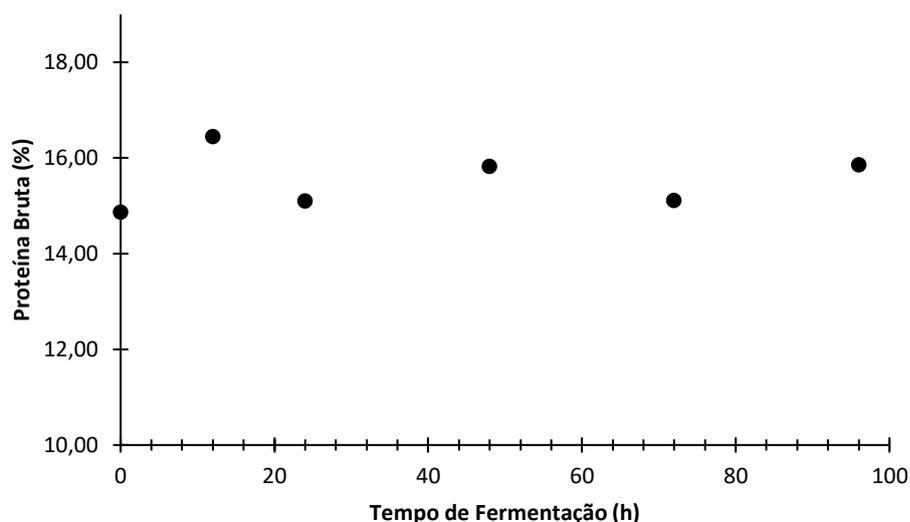
A Figura 4.6, mostra que o teor proteico do substrato diminuiu levemente nas primeiras 24h. Em seguida houve um pequeno aumento proteico atingindo seu ponto máximo nas 48h de fermentação quando alcançou cerca de 16,99%. No restante do processo fermentativo percebe-se ligeiro declínio e permaneceu praticamente constante até as 96h de processo. Este experimento foi realizado a uma temperatura de 33 °C e uma concentração de levedura de 7%.

Figura 4.6 – Acompanhamento cinético do aumento de proteína bruta da mistura (bagaço de caju e brotos de palma forrageira), correspondente ao ensaio 6: T = 33 °C e CL = 7 %.



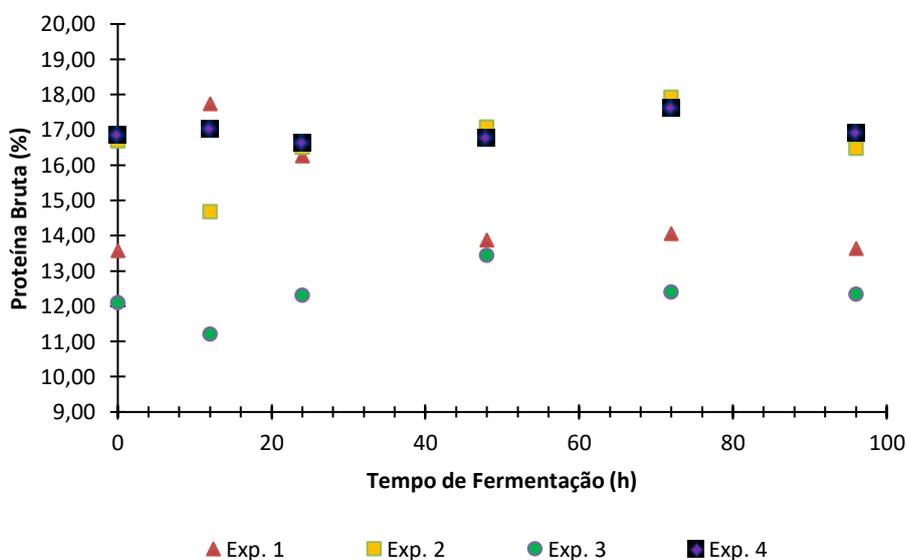
Na Figura 4.7, observa-se que o teor proteico do substrato aumentou nas primeiras 12 h decrescendo logo em seguida nas 24h do processo fermentativo e praticamente no tempo restante permaneceu estabilizado até o final da fermentação. Este experimento foi realizado a uma temperatura de 33 °C e uma concentração de levedura de 7 %.

Figura 4.7 – Acompanhamento cinético do aumento de proteína bruta da mistura, correspondente ao ensaio 7: T = 33 °C e CL = 7 %



A Figura 4.8 exibe o comportamento cinético da proteína bruta nos 4 experimentos distintos, para uma melhor visualização da tendência do aumento proteico durante o processo da fermentação semissólida da mistura de brotos de palma forrageira e bagaço de caju.

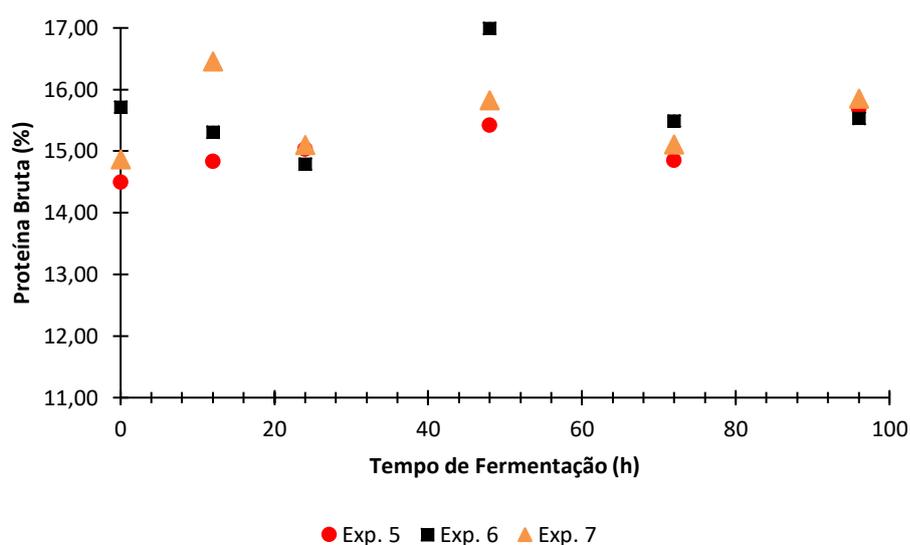
Figura 4.8 – Acompanhamento cinético do aumento de proteína bruta da mistura, correspondente aos ensaios 1,2,3 e 4: T = 33 °C e CL = 7 %



A Figura 4.9 mostra o acompanhamento cinético do teor de proteína bruta da mistura para os pontos centrais da matriz de planejamento experimental (três

experimentos idênticos). Verifica-se um perfil similar no aumento do teor de proteína ao longo do processo para os três experimentos realizados. Observa-se, também, um aumento gradativo no teor proteico ao longo do processo fermentativo, atingindo um teor máximo de proteína bruta no tempo de 48h. O valor médio do teor inicial de proteína bruta da mistura da palma forrageira com o bagaço de caju foi de 15,41%, o qual aumentou ao longo do tempo de fermentação, apresentando um teor médio final de 16,38%, ou seja, um incremento de 1,06%, demonstrando.

Figura 4.9 – Acompanhamento cinético do aumento de proteína bruta da mistura, correspondente ao ponto central. Experimento 5, 6 e 7.



4.3. Avaliação estatística do processo do enriquecimento proteico da mistura

Em todos os ensaios os valores da concentração de levedura adotados foram 4, 7 e 10%, com o intuito de tornar mais viável à transferência futura do processo produtivo para a sua execução por empreendedores, no sentido de diminuir os custos de produção e tendo por limite o tempo de fermentação de 96h.

A Tabela 4.4 mostra as variáveis independentes, variáveis resposta, tempo e o maior valor obtido para (PB) e (AP) nos ensaios do processo fermentativo da mistura nas 96 horas de fermentação, obtidos durante o processo fermentativo. Foi feito uma análise de regressão linear, utilizando o programa Statistica 5.0, para obter os coeficientes dos modelos.

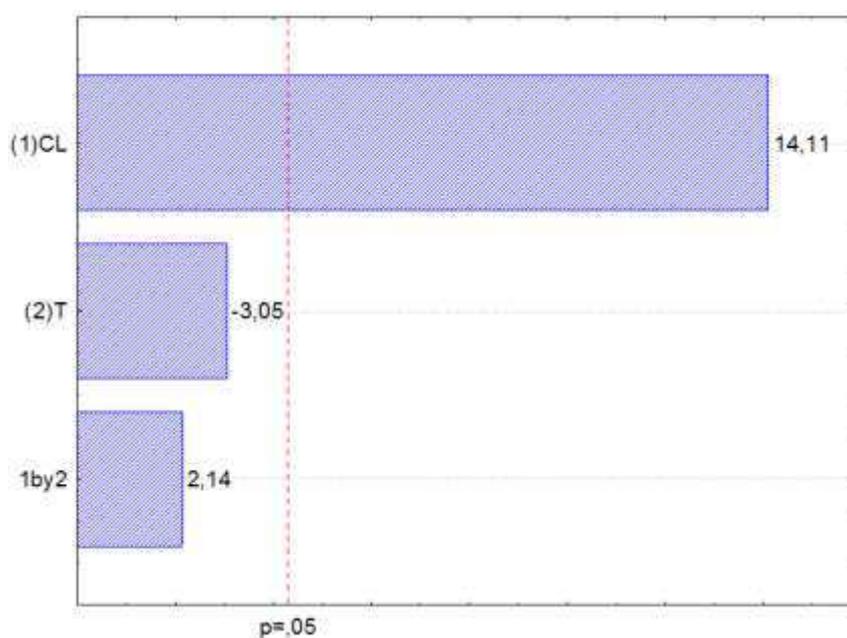
Tabela 4.4 - Variáveis independentes, variáveis resposta, tempo e o maior valor obtido para (PB) e (AP) nos ensaios do processo fermentativo da mistura nas 96 horas de fermentação

Experimentos	CL (%)	T (°C)	PB (%)	AP (%)	T (horas)
1	04	30	17,48	2,03	12
2	10	30	17,91	2,07	72
3	04	36	13,44	1,56	48
4	10	36	17,61	2,04	72
5	7	33	15,42	1,79	48
6	7	33	16,99	1,97	48
7	7	33	15,82	1,83	48

CL= Concentração de Levedura, T= Temperatura, PB= Proteína Bruta, AP= Aumento Proteico, t= horas

Na Figura 4.10 mostra o Diagrama de Pareto para o (AP) obtido, onde verifica-se que apenas a variável independente concentração de levedura - CL foi estatisticamente significativa ao nível de 95% de confiança.

Figura 4.10 - Diagrama de Pareto dos efeitos da variável independente (CL) sobre a variável resposta Aumento Proteico (AP).



A Tabela 4.5 apresenta os dados do coeficiente de determinação de 0,98 e a qualidade do ajuste de 0,96.

Tabela 4.5 - Análise de variância para a variável resposta Aumento Proteico (AP).

Características	R ²	Qualidade do ajuste	F _{cal}	F _{tab}	F _{cal} /F _{tab}
AP	98,2	0,96	56,06	6,608	8,48

R²= regressão; F_{cal}= F calculado; F_{tab}= F tabelado

A percentagem de variação explicada pela regressão em torno da média para o aumento proteico foi de 81,91.

Como a variável resposta aumento proteico apresentou efeito estatisticamente significativo apenas para variável independente concentração de levedura, optou-se por apresentar um modelo polinomial em base estatística, conforme mostrado na Equação 4.1, já que o teste F da regressão e da falta de ajuste foi estatisticamente significativo e altamente preditivo, respectivamente.

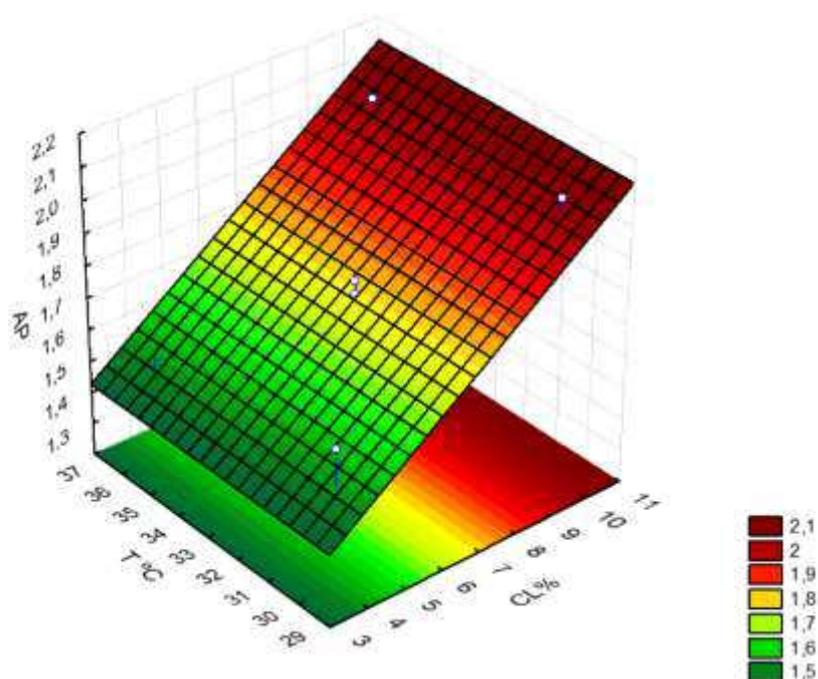
Equação 4.1 – Modelo polinomial com base estatística.

$$AP=2,81-0,058*CL \dots\dots\dots(4.1)$$

O modelo gerado é estatisticamente significativo e preditivo para o aumento proteico.

A superfície de resposta está apresentada na Figura 4.11 em que se observa a superfície plana, indicando um comportamento esperado para um modelo linear.

Figura 4.11 - Superfície de resposta para aumento proteico em função da concentração de levedura e temperatura.



A Figura 4.11 referente a superfície de resposta do Aumento Proteico em função da concentração de levedura e temperatura ilustra o efeito das variáveis independentes, temperatura de fermentação e concentração inicial de leveduras sobre a resposta aumento proteico. A superfície de resposta indica que o aumento proteico independe da temperatura e aumenta com o aumento da concentração de levedura. O valor de R^2 obtido para a resposta PB e AP foi de 81,91. Isto significa que estes modelos de regressão preveem uma boa explicação da relação entre a variável independente (CL) e as respostas (PB e AP), ou seja, os modelos propostos conseguem a variância das respostas.

Embora o maior aumento proteico tenha sido obtido no tempo de 72 h (2,07 %), tem-se como o mais favorável economicamente em todo o processo fermentativo o resultado encontrado no tempo de 12 horas (2,03 %).

Pesquisa realizada por Campos (2003) promovendo o enriquecimento proteico do bagaço do pedúnculo de caju por fermentação semissólida, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* constatou, nesse estudo, que o maior teor de proteína bruta alcançado foi de 20,25%, conseguido com a adição de 12% de concentração de levedura e uma temperatura de fermentação de 33 °C, após 28 h de

processo. Os resultados alcançados mostram que é viável a utilização da levedura para obtenção de um concentrado proteico, utilizando o bagaço de caju como substrato.

Araújo (2004) estudou o processo de enriquecimento proteico das cactáceas, mandacaru e palma forrageira, através da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em fermentação semissólida. Neste estudo foi avaliado a influência da concentração de levedura, espessura da camada de substrato e temperatura de fermentação sobre o teor proteico dos substratos fermentados. O valor máximo do teor proteico, alcançado nas diferentes concentrações de levedura, temperatura e espessura das camadas, foi de 28 e 26% de proteína bruta, para mandacaru e palma forrageira, respectivamente.

Amorim *et al.* (2005) utilizou o rejeito sólido (bagaço) de caju proveniente das agroindústrias para estudar o enriquecimento proteico e nutricional desse bagaço com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* através da FSS. Neste experimento foi realizada fermentações a temperatura constante em biorreatores de bandeja com a adição de 15% de concentração de leveduras ao substrato. Nestas condições o bagaço apresentou um aumento proteico de 1,46 vezes em relação ao teor de proteína contido no bagaço *in natura*.

Já Almeida (2007) em estudos sobre o enriquecimento proteico do mandacaru utilizando o *Aspergillus niger* e *Saccharomyces cerevisiae* por fermentação semissólida, obteve o maior aumento proteico utilizando o *Aspergillus niger* após 72 h de fermentação em bandeja a uma temperatura de 30 °C. Nessas condições o teor proteico encontrado foi de 76,9%.

Em pesquisa realizada por Oliveira (2007) o qual estudou o enriquecimento nutricional por bioconversão de resíduos agroindustriais para utilização na alimentação animal utilizando como substrato resíduos de casca de maracujá e casca e coroa de abacaxi, enriquecidos com a *Saccharomyces cerevisiae* por FSS. As fermentações foram realizadas em bandejas durante um período de 48 h. O aumento proteico encontrado para os três resíduos foi em média de 2,40 vezes, em relação ao *in natura*. O autor conclui que os resíduos alcançam concentrações nutricionais que, podem ser transformados em suplemento nutricional, sendo uma alternativa alimentar.

4.4. Composição centesimal e mineral da mistura enriquecida e desidratada

A composição centesimal de um alimento, assim convencionada, é a proporção em que aparecem, em 100g do produto, grupos homogêneos de substâncias que constituem qualquer alimento. Por convenção, os grupos homogêneos de substâncias constituintes do alimento são os seguintes:

- Umidade ou voláteis a 105°C;
- Cinzas ou resíduo mineral fixo;
- Lipídios, gorduras ou extrato etéreo;
- Proteína bruta ou extrato nitrogenado;
- Carboidratos, glicídios, açúcares ou sacarídeos e;
- Fibras ou substâncias insolúveis.

A composição centesimal de um alimento exprime o valor nutritivo destes alimentos. A partir da composição centesimal, pode-se verificar a riqueza desse alimento naqueles grupos homogêneos acima descritos, bem como, verificar, o valor calórico desse alimento.

A Tabela 4.6 mostra a composição centesimal e a Tabela 4.7 a composição mineral da mistura enriquecida e desidratada.

Tabela 4.6 – Composição centesimal da mistura enriquecida e desidratada

Parâmetros	Mistura enriquecida e desidratada	
	Média	Desvio Padrão
Umidade %	7,196	± 0,1782
Cinzas %	4,877	± 0,1754
Proteína	17,91	± 0,2610
Lipídios	4,11	± 0,0071
Carboidratos %	63,55	-
Energia	362,90	-

Carboidratos (%) = 100 - (umidade + minerais + proteínas + lipídios)
Energia (kcal/100g) = [(carboidratos x 4) + (proteínas x 4) + (lipídios x 9)]

Observa-se que a mistura de bagaço de caju e brotos de palma forrageira apresenta um teor de umidade de 7,196 %, (b.s.).

Tabela 4.7 – Composição mineral da mistura enriquecida e desidratada.

Parâmetros	Mistura enriquecida e desidratada		IDR (Ingestão diária Recomendada)
	Média	Desvio Padrão	Resolução RDC nº 269. 22/09/2005 "regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais".
Fosforo mg/100g	243,47	± 0,2309	800 mg/100g
Sódio mg/100g	299,86	± 1,6674	2.400 mg/100g
Cálcio mg/100g	442,47	± 2,8284	800 mg/100g
Ferro mg/100g	9,15	± 0,0265	14 mg/100g
Magnésio mg/100g	479,77	± 0,0577	300 mg/100g
Vitamina C mg/100g	65,46	± 0,0458	45 mg/100g

Os minerais representam uma grande classe de micronutrientes encontrados nos alimentos segundo Anderson (2005). Estes são divididos em dois grupos: macro minerais e elementos traço. O grupo macro mineral é constituído por: K, Na, Ca, Mg, Cl, P, S e C, principais formadores de sais. Os elementos traço, na maioria das vezes estão presentes em quantidades inferiores a 50 partes por milhão (ppm), onde se encontram elementos nutricionalmente essenciais como: Fe, Cu, I, Co, Mn, Zn, Cr, Ni, Si, F, Mo e SE, Deman (1999).

O valor nutricional de um alimento, que contém um determinado mineral depende não só do seu teor total, mas também da sua biodisponibilidade para os seres humanos Ruzik 2012. A biodisponibilidade é o termo utilizado para indicar a proporção dos elementos que são absorvidos e utilizados pelo organismo Santos *et al.*, 2004.

Neste experimento determinou-se alguns destes micronutrientes na mistura enriquecida e desidratada, conforme mostrado na tabela 4.8, em quantidades significativas encontradas tais como:

- Fosforo; encontrou-se 30,4% da IDR. É um componente importante no mecanismo energético, auxilia a estrutura de dentes e ossos; ajuda, também, no batimento cardíaco e funções renais. Está intimamente associado ao cálcio (Ca) na nutrição humana, sendo chamado de seu gêmeo metabólico. Para ajudar a manter o equilíbrio normal sérico Ca/P, as quantidades desses minerais na dieta devem ser equilibradas na proporção de 1:1.

Os fatores que favorecem ou dificultam a absorção do fósforo são os mesmos que na absorção do cálcio (CALVO, 1996).

- Sódio; apresentou 12,5 % da IDR. Auxilia a regular o equilíbrio de água no organismo e as atividades celulares; bem como no funcionamento de nervos e músculos. Sem água não há vida e sem NaCl não há volume celular segundo Forte e Fonteles (2007). O funcionamento fisiológico de um ser vivo requer uma composição constante e definida de seus fluidos corporais e grandes alterações são geralmente incompatíveis com a vida Schmidt-Nielsen (2002).
- Cálcio; apresentou 55,3 % da IDR. Esse nutriente atua na estrutura e conserva saudáveis dentes e ossos; componente da textura do sangue; auxilia a contração e desenvolvimento dos músculos; ajuda a regular os batimentos cardíacos e da pressão arterial. Segundo Baldo 2008 o cálcio é um dos minerais mais importantes, por ser o responsável pela constituição dos ossos e dentes, além de ser fundamental para a manutenção de várias funções do organismo, como a contração muscular, coagulação do sangue, transmissão de impulsos nervosos e secreção de hormônios. Segundo o mesmo autor é necessário que os níveis sanguíneos deste mineral se mantenham em patamares seguros e específicos, para realizar suas funções.
- Ferro; apresentou 67,14 % da IDR. Essencial para a hemoglobina; auxilia também as células brancas do sangue a lutar contra infecções; evita a fadiga e estimula o crescimento. Embora o homem já soubesse dos benefícios da ingestão de alimentos ricos em ferro, apenas em 1872, Boussingault, reconheceu este mineral como um nutriente vital para os animais Anderson *et al.* (1999)
- Magnésio; com uma quantidade de 160 % da IDR. Auxilia no desenvolvendo dos ossos, nas funções nervosas e musculares; além da absorção de outros minerais e vitaminas. A alimentação é responsável pelo fornecimento de parte dos antioxidantes que o ser humano necessita. A deficiência dietética destes antioxidantes e outras substâncias essenciais pode causar estresse oxidativo segundo Halliwell 2006a. Dentre estes está o magnésio que participa do metabolismo energético, da regulação dos transportadores de íons e da contração muscular segundo Wolf & Cittadini 2003.

- Vitamina C; encontrado na proporção de 145,47 % da IDR. Os seres humanos fazem parte do grupo de seres vivos que não são capazes de sintetizar vitamina C. Têm-se especulado que estes não possuem tal capacidade com a finalidade de aumentar as reservas de glicose, precursor do ácido L-ascórbico no organismo. Desta forma a ingestão desta vitamina é vital para a saúde e até mesmo para a sobrevivência dos humanos, pois o ácido ascórbico participa de inúmeras atividades fisiológicas Rosa *et al.* 2007. As Vitaminas são compostos orgânicos e nutrientes essenciais de que o organismo necessita em quantidades limitadas segundo Lieberman e Bruning 1990. Um determinado composto químico orgânico é denominado vitamina quando o organismo não consegue sintetizar esse composto em quantidades suficientes, pelo que tem que ser obtido através da dieta. Assim, o termo "vitamina" depende das circunstâncias de cada organismo específico. Por exemplo, o ácido ascórbico, uma forma de vitamina C, é uma vitamina para os seres humanos, mas não para a maior parte dos animais. A suplementação de vitaminas é importante no tratamento de alguns problemas de saúde de acordo com o INT – Office of dietary Supplements (2016). As vitaminas têm várias funções bioquímicas. Algumas, como a vitamina D, têm funções semelhantes às hormonas enquanto reguladoras do metabolismo mineral, do crescimento celular e diferenciação dos tecidos. Outras, como a vitamina E ou a C, atuam como antioxidantes afirmam Bender e David 2003.

4.5. Determinação de análises microbiológicas da mistura enriquecida e desidratada

A análise microbiológica da mistura enriquecida e desidratada foi realizada no Laboratório de Tecnologia de Alimento da CT/UFPB e nos indica que o produto obtido foi devidamente manipulado de acordo com as boas práticas de fabricação não oferecendo risco ao seu consumo. Os cuidados higiênicos sanitários com a manipulação, utensílios máquinas e equipamentos utilizados foram devidamente observados durante a execução de todo os sete experimentos da Fss.

A Tabela 4.8 mostra os resultados obtidos da mistura enriquecida e desidratada do experimento que alcançou o maior aumento proteico, com T 30 °C; CL de 10 % no tempo de 72 horas de fermentação.

Tabela 4.8 – Resultado das análises microbiológicas da mistura enriquecida e desidratada nas condições correspondente ao experimento 2 (T = 30 °C, CL = 10 % e tempo t = 72 h).

ANÁLISES	RESULTADOS			PADRÃO/MAPA/MS (*) (**)
	A1	A2	A3	
Contagem de Bactérias	A1	A2	A3	(*) (**)
Coliformes a 45° C (NMP/g)	0,0	0,0	0,0	Máx. 1/g
<i>Bacillus cereus</i> /g	0,0	0,0	0,0	-
<i>Salmonella sp</i> em 25 g	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

(*) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento -MAPA - Instrução Normativa Nº 01, de 7 de janeiro de 2000, para polpa de fruta.

(**) Ministério da Saúde - Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos

Os resultados obtidos encontram-se dentro dos padrões da resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 para produtos desidratados.

5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados, as seguintes conclusões foram identificadas:

- O processo de fermentação semissólida em biorreator de bandeja é adequado para enriquecer nutricionalmente a mistura de pedúnculo de caju e brotos de palma;
- O teor de proteína bruta obtido neste estudo equivale a 35,82 % do valor de ingestão diária recomendado para um adulto que é de 50g/100g;
- Essa mistura enriquecida e seca pode agregar valor nutricional a certos alimentos como barra de cereais e farinhas;
- O aumento proteico dessa mistura é tecnicamente viável em função da qualidade funcional que apresentam o bagaço de caju e a palma forrageira pela quantidade de fibra alimentar presente, podendo, portanto, ser considerado o seu aproveitamento como uma forma promissora, econômica e ambiental;
- O maior aumento proteico, durante a fermentação semissólida foi de 17,91 %, após 72 horas de fermentação a uma temperatura de 30°C com uma concentração de levedura de 10%, e uma espessura da camada de 3 cm.

6. SUGESTÕES

- Estudar a ampliação de escala do processo fermentativo (scale up) e da sua viabilidade econômica;
- Estudar o enriquecimento proteico com a *Saccharomyces cerevisiae* avaliando outras variáveis de entrada, como adição de diferentes fontes de nitrogênio (sulfato de amônio, ureia);
- Realizar Análise Sensorial da mistura obtida pelo enriquecimento, a fim de investigar a possibilidade de sua adição suplementar em farinhas, biscoitos, sucos;
- Estudar a otimização do processo de produção com o uso de outros biorreatores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, P.M, et al. **Enriquecimento proteico do bagaço de maçã com proteína fúngica através da fermentação em estado sólido**. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FERMENTAÇÕES, 2003, Florianópolis. Anais. Florianópolis, 2003.

ALBUQUERQUE, Patrícia Melchionna. **Estudo da Produção de Proteína Microbiana a Partir do Bagaço de Maçã**. Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, 2003.

ALCÂNTARA, S. R. et al. **Isotermas de Adsorção do Pedúnculo Seco do Caju**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 13, n. 1, p. 81-87, 2009.

ALMEIDA, Mércia Melo de. **Estudo da bioconversão do mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC.) para produção de bioprodutos**. Tese de Doutorado apresentada à Coordenação do Curso de Doutorado em Engenharia de Processos da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, 2007.

AMORIM, B.C. et al. **Estudo do enriquecimento proteico do bagaço da fruta da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill)**. VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. p.1-6, 2005.

ANDERSON, BRIAN K; EASTER, ROBERT A. **A review of Iron Nutrition in Pigs**. Pig Book. Champaign: Illinois University, 1999. p. 75 – 89.

ANDERSON, J. J. B. Minerais. In: MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: alimentos, nutrição & dietoterapia**. 11 ed. São Paulo: Roca, 2005. cap.5. p.115-153.

ARAÚJO, L. de F. et al. **Enriquecimento proteico de alimentos por levedura em fermentação semissólida: alternativa na alimentação animal**. Tecnologia & Ciências Agropecuária, João Pessoa, v.3, n.3, p.47-53, set. 2009. Disponível em http://www.emepa.org.br/revista/volumes/tca_v3_n3_set/tca09_enriquecimento_prot_eico.pdf. Acesso em 21/09/2015.

_____. **Equilíbrio higroscópico da palma forrageira:** Relação com a umidade ótima para fermentação sólida. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 9, n. 3, p. 379-384, 2005.

ARAÚJO, L.F. et al. **Protein enrichment of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* Mill) using *Saccharomyces cerevisiae* in solid-state fermentation.** *Brazilian Arch Biology and Technology*, v.48, Special n., p.161-168. June, 2005.

ARAÚJO, P.R.B. et al. **Substituição do milho por palma forrageira em dietas completas para vacas em lactação.** *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.33, n.6, p.1850-1857, 2004.

BALDO, Luciane. **Suplementação de cálcio na dieta sem lactose.** *Sem Lactose*, 8 mar. 2008. Disponível em: <http://www.semlactose.com/index.php/2008/03/08/suplementacao-de-calcio-na-dieta-sem-lactose> Acesso em: 21 de agosto de 2016.

BENDER, DAVID, A. **Nutritional biochemistry of the vitamins.** Cambridge: Cambridge University Press. 2003.

BRAMORSKI, A. **Caracterização do crescimento e produção de metabólitos voláteis por fungos filamentosos cultivados sobre substratos agroindustriais.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, 1997.

CALVO, M. S.; KUMAR, R. **Elevated secretion and action of serum parathyroid hormone in young adults consuming high phosphorus, low calcium diets assembled from common foods.** *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v. 66, p. 823-829, 1996.

CAMPOS, A. R. N. **Enriquecimento proteico do bagaço do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale*) por fermentação semissólida.** 2003. 85f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande.

CAMPOS, A. R. N. et al. **Enriquecimento proteico do bagaço do pedúnculo de caju por cultivo semissólido.** *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, v. 5, n. 2, p. 1519-5228, 2005.

CAMPOS, A.R.N. **Enriquecimento nutricional da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica Mill*) por fungos**: estudo experimental de ampliação de escala. 2005. 83f. Exame de Qualificação (Doutorado) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande.

CAMPOS, A.R.N. **Enriquecimento nutricional da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica Mill*) por fungos**: estudo experimental de ampliação de escala. 2008. Tese de Doutorado apresentada à Coordenação do Curso de Doutorado em Engenharia de Processos da Universidade Federal de Campina Grande como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Engenharia de Processos.

CANOILAS, L.M. **Enriquecimento proteico de resíduos de farinha de mandioca pelo desenvolvimento de leveduras**. 1991. 110f. Dissertação (Mestrado) – ESALQ, Piracicaba.

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.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de trutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Edição, Lavras: UFLA, 2005. 785p.

COELHO, P. de O. **Microbiota Fúngica e Aflatoxinas em Alimentos Destinados a Cabras: Aflatoxina m1 no leite produzido em diferentes condições climáticas**. Dissertação apresentada à Universidade do Rosário Vellano, Alfenas, MG, 2010.

CORREIA, R.; MAGALHÃES, M.; MACEDO, G. **Protein enrichment of pineapple waste with *Saccharomyces cerevisiae* by solid state bioprocessing**. Journal of Scientific & Industrial Research. v.66, p.259-262. March 2007.

CROOKE, P. S. et al. **Sólid and Semi-Sólid State Bioreactors**: static, rotating and fluidized bed fermentors. Journal Of The Biomass Energy Society of China, v. 10, n. 1/2, p. 1-17, 1991.

DEL BIANCHI, V. L.; MORAES, I. O.; CAPALBO, D. M. F. **Fermentação em estado sólido**. In: Schimmedell, W.; Lima, U. A.; Aquarone, E.; Borzani, W. **Biotecnologia industrial: engenharia bioquímica**. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., v.2, 2001.

DEMAN, J.M. **Principles of Food Chemistry**. Gaithersburg: Aspen Publishers, 1999.

DESSIMONI, G. V. et al. **Composição Bromatológica, e Fatores Antinutricionais da Palma Forrageira**. Disponível em www.emepa.org.br/revista/volumes/tca_v8_n3_set/tca8311.pdf. Acesso em 01/09/2015.

FARIAS, V. F. de S.; COSTA, Orientador. **AValiação do Desenvolvimento, Qualidade e Capacidade Antioxidante em Brotos de Palma (Opuntia sp.) para o Consumo Humano**. Programa de Pós Graduação em Sistemas Agroindustriais (Dissertações e Teses), v. 2, n. 1, p. 10, 2014.

CÂNDIDO FILHO, A. et al. **Base Alimentar Humana com o uso da Palma Forrageira: o Estudo da Arte**. Vi Simpósio Reforma Agrária e Questões Rurais Nupedor 2014.

FORTE, L. R. & FONTELES, M. C. **Uroguanylin and Guanylin. Endocrine link connecting the intestine and kidney for regulation of sodium balance**. The Kidney, 2007.

FRANCO, B.D.G.M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo, Editora Atheneu, p.174, 1996.

GALVÃO, A. M. P. G. **Aproveitamento da fibra de caju (*Anacardium occidentale L.*) na formulação de um produto tipo hambúrguer**. 2006. 64f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

GIBRIEL, A. Y. et al. **Production of Single Cell Protein From Cereal by-Products**. Agricultural Wastes, v. 3, p. 229-40, 1981. [http://dx.doi.org/10.1016/0141-4607\(81\)90030-5](http://dx.doi.org/10.1016/0141-4607(81)90030-5).

GOMES, P. **Forragens fartas na seca**. São Paulo, Nobel, 233p.,1977.

GUSMÃO, Rennan Pereira de. **Avaliação dos Aspectos Tecnológicos Envolvidos na obtenção da Farinha de Palma Forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill)**. João Pessoa, 2011, 66f.

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

HALLIWELL, B. **Reactive species and antioxidants**. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*, v. 141, n 3, p. 312-322, 2006^a.

HOLANDA, J. S. de; OLIVEIRA, A. J. de; FERREIRA, A. C. **Enriquecimento proteico de pedúnculos de caju com emprego de leveduras, para alimentação animal**. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 33, n. 5, p. 787-792, 1998.

HOLANDA, J.S.; OLIVEIRA, A.J.E.; FERREIRA, A.C. **Enriquecimento proteico de pedúnculos de caju com emprego de leveduras, para alimentação animal**. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília. v.33, n.5, p.79-82, 1997.

IBRAF. Instituto Brasileiro de Frutas- **O Sistema Agroalimentar de Frutas e Derivados**. Disponível em <http://www.ibraf.org.br/detalhe.aspx?id=1>. Acesso em 22.12.2015.

LAUFENBERG, G. **Transformation of vegetable waste into added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations**. *Bioresource Technology*, 87, pp.167-198. 2003.

LIEBERMAN, S. e BRUNING, N. **The Real Vitamin & Mineral Book**. Nova Iorque: Avery Group, 1990.

LITCHFIELD, J. H. **Single-cell proteins**. *Science*, v.219, p.740-746, 1983.

LOPES, E. B. et al. **Palma Forrageira: Cultivo, uso atual e Perspectivas de Utilização no Semiárido Nordeste**. João Pessoa: EMEPA/FAEPA, 2007.

LOPES, R. D. V. V. et al. **Aplicação do Planejamento Fatorial para Otimização do Estudo da Produção de Fermentado do Fruto da Palma Forrageira**. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais. Campina Grande, v. 7, n. 1, p. 25-32, 2005.

LU, M. Y.; MADDOX, I. S.; BROOKS, J. D. **Application of a multi-layer packedbed reactor to citric acid production in solid state fermentation Systems: a review**. *Process Biochemistry*, v. 33, n. 2, p. 117-123, 1998

MACCARINI, A. C. **XXXIII ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO A Gestão dos Processos de Produção e as Parcerias Globais para o Desenvolvimento Sustentável dos Sistemas Produtivos**. Salvador, BA, Brasil, 08 a 11 de outubro de 2013. Disponível em http://www.abepro.org.br/biblioteca/enegep2013_TN_STO_185_055_23124.pdf. Acesso em 07.02.2015.

MELLO, M. C. A. **Produção Mais Limpa: um estudo de caso na AGCO do Brasil**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Administração da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, da UFRS, Porto Alegre, 2002.

MILLER, G. **Use of dinitrosalicilic acid reagent for determination of reducing sugars**. *Analytical Chemistry*. v.31, p.426-428. 1959

MITCHELL, D. A.; VON MEIEN, O. F.; KRIEGER, N. **Bioreactor design and operation for solid state fermentation**. In: Curso de Fermentação Semissólida na obtenção de bioprodutos EMBRAPA, Jaguariúna, Brazil, 2002

MORAES, A.F. **Enriquecimento proteico de farelo de arroz por fermentação semissólida em biorreator de coluna com leito fixo**. 1999. 110f. Dissertação (Mestrado) - Fundação Universidade do Rio Grande, Rio Grande do Sul.

MORAES, I. O. **Fermentação semissólida: definições e conceitos básicos envolvidos; importância dos processos na obtenção de bioprodutos**. Embrapa (CD Rom), 2001.

NATIONAL INSTITUTE of HEALTH - office of Dietary Supplements. **Use and Safety of Dietary Supplements**

https://ods.od.nih.gov/Health_Information/ODS_Frequently_Asked_Questions.aspx. Acesso em 23 de agosto de 2016.

OLIVEIRA, M. A. et al. **Production of fungal protein by solid substrate fermentation of cactus *Cereus peruvianus* and *Opuntia ficus indica***. Química Nova, v.4, n.3, p.307-310, 2001.

OLIVEIRA, M. M. **Enriquecimento nutricional por bioconversão de resíduos agroindustriais para utilização na alimentação animal**. Tese Doutorado em Engenharia de Processos. Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia - Campina Grande: 2007.

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

PANDEY, A. **Solid-state fermentation**. Biochemical Engineering Journal, v.13, p.81-84, 2003.

PELIZER, L. H.; PONTIERI, M. H.; DE OLIVEIRA MORAES, I. **Utilização de resíduos agroindustriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental**. Journal of Technology Management & Innovation, v. 2, n. 1, p. 118-127, 2007.

PERAZZO NETO, A. **Determinação de parâmetros para o enriquecimento proteico da palma (*Opuntia ficus indica* Mill) e vagens de algaroba (*Prosopis juliflora*) com *Aspergillus niger***. 1999. 130f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro.

PINHO, L. X. **Aproveitamento do Resíduo do Pedúnculo do Caju (*Anacardium occidentale* L.) para Alimentação Humana**. 2009. 99 p. 2009. Tese de Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

PINHO, L. X. et al. **DESIDRATAÇÃO E APROVEITAMENTO DE RESÍDUO DE PEDÚNCULO DE CAJU COMO ADIÇÃO DE FIBRA NA ELABORAÇÃO DE HAMBÚRGUER**, Dehydration and use of cashew apple residue as fiber source in

hamburger preparation. Alimentos e Nutrição Araraquara, v. 22, n. 4, p. 571-576, 2012.

PINTO, G. A. S. et al. **Fermentação em estado sólido: uma alternativa para o aproveitamento e valorização de resíduos agroindustriais.** Revista de Química Industrial, v.74, n.724, p.17-20, 2006.

RAGHAVARAO, K.S.M.S.; RANGANATHAN, T.V.; KARANTH, N.G. **Some engineering aspects of solid-state fermentation.** Biochemical Engineering Journal, v.13, p.127-135, 2003.

RAMANA, M.M.V.; KARANTH, N.G.; RAGHAVARAO, K.S.M.S. **Biochemical Engineering aspects of solid-state fermentation. Advances in Applied Microbiology,** v.38, p.99-146, 1993.

RUZIK, L. Speciation of challenging elements in food by atomic spectrometry. **Talanta,** Netherlands, v. 93, p. 18-31, fev., 2012.

SANTIN, A. P. **Estudo da secagem da inativação de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*).** Florianópolis: UFSC, 1996. 150p. Dissertação Mestrado.

SANTOS, H. B. et al. **Estudos bioquímicos e hematológicos em ratos sobre biodisponibilidade de minerais numa dieta enriquecida com multimistura.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 24, n. 4, p. 613-618, out./dez., 2004.

SANTOS, D. T. et al. **Potencialidades e aplicações da fermentação semissólida em biotecnologia.** Janus, v. 3, n. 4, 2008.

SANTOS, M.V.F. **Composição química, armazenamento e avaliação da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill e *Nopalea cochenillifera* Salm Dick) na produção de leite em Pernambuco.** Dissertação Mestrado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1989.

SANTOS, S. F. de M. **Estudo da produção de pectinase por fermentação em estado sólido utilizando pedúnculo de caju como substrato.** SANTOS, Sharline Florentino de Melo. Estudo da produção de pectinase por fermentação em estado sólido utilizando pedúnculo de caju como substrato. 2007.

SANTOS, T. C. **Fermentação em Estado Sólido do Farelo de Palma Forrageira: obtenção de enzimas industriais e enriquecimento proteico para utilização na alimentação de ruminantes.** Itapetinga - BA: UESB, 2013. 128 p. (Dissertação: Mestrado em Ciências Ambientais – Área de Concentração em Meio Ambiente e Desenvolvimento).

SCHMIDT-NIELSEN, K. **Animal Physiology – Adaptation and Environment.** Cambridge University Press. 5 ed. P. 301-356. 2002.

SCHMIDELL, W. et al. **Biotecnologia industrial.** Engenharia Bioquímica. v.2. Editora Edgard Blücher LTDA. São Paulo, 2001.

SUHET, M. I.; FIOREZE, R. Produção de Proteína Unicelular a Partir do Resíduo da Industrialização do Abacaxi Utilizando Fermentação em Estado Semissólido. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial.** v. 5, n. 2, 2011.

SUHET, M.I. **Enriquecimento protéico do resíduo da industrialização do abacaxi (*Ananas comosus Merril*) por fermentação: utilizando fungos filamentosos.** 1997. 82f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

UNEP. **Cleaner Production worldwide.** Vol.II, pg. A. França, 1995.

UNIDO. **Cleaner production Toolkit. Introduction into cleaner production.** Volume 1. 2001.

UNIDO/UNEP. **Manual de avaliação de P+L.** Porto Alegre, 1995.

VELÁSQUEZ, P. A. T. et al. Composição química, fracionamento de carboidratos e proteínas e digestibilidade in vitro de forrageiras tropicais em diferentes idades de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v. 39, p. 1206-1213, 2010.

VIEIRA, S.M., **Biscoito tipo cookie com adição de quitosana.** Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Ceará. Fortaleza: DTA, 2001.

WOLF, F. I.; CITTADINI, A. Chemistry and biochemistry of magnesium. **Molecular Aspects of Medicine.** v. 24, n. 1-3, p. 11-26, 2003.

ZIINO, M. et al. Lipid composition of *Geotrichum candidum* single cell protein grown in continuous submerged culture. **Bioresource Technology**. v.67, n.1, p.7- 11, 1999.