

Boletim de Pesquisa N.º 19

**ISSN 0103-6424
Maio, 1996**

**POTENCIAL PROTÉICO DE PEDÚNCULOS DE CAJU
ENRIQUECIDOS POR LEVEDURAS**

**José Simplício de Holanda
Antônio Joaquim de Oliveira
Luís Maurício Cavalcante Salviano
Antônio Carlos Ferreira**



**Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária - MAARA
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA
Centro Nacional de Pesquisa de Agroindústria Tropical - CNPAT
Fortaleza, CE**

Copyright © EMBRAPA-CNPAT - 1996

EMBRAPA-CNPAT. Boletim de Pesquisa, 19.

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

EMBRAPA-CNPAT

Rua dos Tabajaras, 11 - Praia de Iracema

Caixa Postal 3761

60060-510 Fortaleza, CE

Telefone (085) 231.7655 Fax (085) 231.7762 Telex (85) 1797

Tiragem: 700 exemplares

Comitê de Publicações:

Presidente: Clódion Torres Bandeira

Secretária: Germana Tabosa Braga Pontes

Membros: Valderi Vieira da Silva

Álffio Celestino Rivera Carbajal

Ervino Bleicher

Levi de Moura Barros

Maria Pinheiro Fernandes Corrêa

Antônio Renes Lins de Aquino

Coordenação Editorial: Valderi Vieira da Silva

Revisão: Mary Coeli Grangeiro Ferrer

Normalização Bibliográfica: Rita de Cássia Costa Cid

Leocádia M. R. Mecnas

Editoração Eletrônica: Nicodemos Moreira dos Santos Júnior

HOLANDA, J.S. de; OLIVEIRA, A.J. de; SALVIANO, L.M.C.;
FERREIRA, A.C. **Potencial protéico de pedúnculos de caju
enriquecidos por leveduras.** Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 1996.
17p. (EMBRAPA-CNPAT. Boletim de Pesquisa, 19).

1. Caju - Pedúnculo - Potencial protéico. 2. Caju - Levedura -
Saccharomyces cerevisiae. I. OLIVEIRA, J.A. de, colab. II. SALVIANO,
L.M.C., colab. III. FERREIRA, A.C., colab. IV. EMBRAPA. Centro Nacio-
nal de Pesquisa de Agroindústria Tropical (Fortaleza, CE). V. Título. VI.
Série.

CDD 634.573

SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO	5
ABSTRACT	7
INTRODUÇÃO	8
MATERIAL E MÉTODOS	9
RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
CONCLUSÃO	15
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16

POTENCIAL PROTÉICO DE PEDÚNCULOS DE CAJU ENRIQUECIDOS POR LEVEDURAS

José Simplicio de Holanda¹
Antonio Joaquim de Oliveira²
Luís Maurício Cavalcante Salviano³
Antonio Carlos Ferreira⁴

RESUMO - A produção de pedúnculos de caju no Brasil é estimada em 1 milhão de toneladas/ano, com aproveitamento industrial entre 2% e 6%. Apresentando cerca de 10% de carboidratos, grande parte da produção desperdiçada pode ser convertida em ração de elevado teor protéico, por microrganismos sintetizadores de proteína, como as leveduras. A eficiência de conversão, no entanto, depende das condições do substrato e do meio fermentativo. Este trabalho visou estudar o efeito do substrato: pedúnculos de caju frescos, doces ou azedos, e pedúnculos secos reidratados, o controle da acidez e a suplementação de nutrientes no meio fermentativo, na conversão de proteína por leveduras. A levedura utilizada foi a *Saccharomyces cerevisiae*, numa proporção de 5% em relação à massa de caju. O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado e a comparação de médias pelo teste de Tukey. O sabor do pedúnculo de caju não influenciou no rendimento protéico, observando-se maior conversão com material fresco em meio com acidez controlada e com adição de nutrientes. O processo de fermentação elevou significativamente ($P < 0,05$) o teor de proteína na massa

¹Eng.º-Agr.º, M.Sc., EMBRAPA/EMPARN, ESALQ/USP-Departamento de Solos, Av. Pádua Dias, 11. Caixa Postal 9, CEP 13418-900 PIRACICABA, SP.

²Eng.º-Agr.º, Professor, ESALQ/USP-Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Av. Pádua Dias, 11. Caixa Postal 9, CEP 13418-900 PIRACICABA, SP.

³Méd.-Vet., M.Sc., EMBRAPA/CPATSA, CENA/USP-Seção Ciências Animais, Av. Centenário, 303. Caixa Postal 96, CEP 13400-970 PIRACICABA, SP.

⁴Lic. Química Industrial. Lab. Plantas-ESALQ/USP-Departamento de Solos, Av. Pádua Dias, 11. Caixa Postal 9, CEP 13418-900 PIRACICABA, SP.

de pedúnculos, de 6,5% no caju natural para 17% na fermentação sem controle da acidez, atingindo um potencial máximo de de 23,1%, em média, de proteína bruta, com caju fresco em meio suplementado. O caju reidratado apresentou potencial protéico semelhante ao do caju fresco fermentado sem adição de nutrientes. Nas massas de caju fermentadas com a adição de nutrientes houve um correspondente aumento, principalmente de N, P, Ca, S e Fe nos produtos obtidos.

Termos para indexação: caju, pedúnculo, potencial protéico, *Saccharomyces cerevisiae*.

PROTEIN CONTENT POTENTIAL OF CASHEW APPLE ENRICHED BY YEASTS

ABSTRACT - Brazilian cashew apple production is approximately 1 million ton/year, with a industrial processing between 2 and 6%. Showing 10% carbohydrates in its composition, this wasted production can be converted by protein synthesizers microorganisms, like yeasts, to high protein animal feed. Conversion efficiency depends on substract conditions and the fermentative medium. The purpose of this work was to study the effect of substrates such as sweet and sour fresh cashew apples, rehydrated dry cashew apples. The acidity control as well as the nutrient supplement in the fermentative medium aiming to assess the protein conversion by yeasts. *Saccharomyces cerevisiae* was used, in a 5% proportion to cashew quantity. The experiment was completely randomized and Tukey's media comparison was used. Cashew apples flavor did not influence the protein yield. Fresh material in controlled acidity media and with nutrients addition showed the greatest conversion yield. Fermentation process increased protein value significantly ($P < 0,05$) from 6,5% for fresh cashew to 17% in fermentation without acidity control. A maximum of 23,1% crude protein was reached with fresh cashew in a supplemented medium. Rehydrated dry apples showed the same protein potential as the fermented fresh apples without nutrients addition. There was an increasing of N, P, Ca, S and Fe in the products obtained from cashews fermented with nutrients addition.

Index terms: cashew apple, protein content, *Saccharomyces cerevisiae*.

INTRODUÇÃO

A produção de pedúnculos de caju no Brasil é estimada em 1 milhão de toneladas/ano, concentrando-se quase totalmente na região Nordeste e com aproveitamento industrial de apenas 2% a 6% do total (Lopes Neto, 1981). A quantidade desperdiçada (94% a 98%) representa elevado potencial de uso para conversão protéica por microrganismos pois, contendo menos de 7% de proteína na sua composição, existe cerca de 10% de carboidratos (açúcar e amido) que podem ser metabolizados como fonte de energia para reações de biossíntese.

Dentre os organismos produtores de proteína destacam-se as leveduras pela alta eficiência na conversão, participando da nutrição humana desde a pré-história. As leveduras foram cedo reconhecidas como fonte protéica de valor, possuindo grande reserva natural de vitaminas do complexo B, com valores nutritivos, em termos de digestibilidade e valor biológico, em torno de 87%, relativamente altos quando comparados aos totais do ovo de galinha, da ordem de 96% (Peppler, 1970).

Segundo Park & Ramirez (1989), as leveduras de panificação são organismos atrativos para produção comercial de proteína devido à fácil propagação fermentativa e ao fato de não terem relação patogênica com o homem. A conversão protéica por leveduras é bem similar à dos organismos superiores.

No Brasil, são raras as pesquisas nesta área de tecnologia de alimentos. A Rússia é o país onde mais rápida evolução ocorreu na produção de leveduras, atingindo no ano de 1982 cerca de 1.140.000 toneladas do produto seco, tendo por finalidade principal a alimentação animal (Menezes et al. 1989).

A eficiência da conversão protéica por leveduras depende de fatores do meio como temperatura, acidez, suprimento de oxigênio e disponibilidade de nutrientes, principalmente quanto a nitrogênio e fósforo (Burrows, 1970), sendo necessárias 5 horas para dobrar o teor de proteína em sistema de fermentação por batelada (Worgan, 1973). Embora as leveduras de panificação se desenvolvam bem numa ampla

faixa de acidez até a neutralidade, normalmente são empregados valores de pH entre 3,5 e 4,5 para restringir o crescimento bacteriano.

Diversos produtos têm sido usados com sucesso para processamento protéico por fermentação microbiana: resíduos de batata-doce (Yang, 1988); bagaço de laranja (Menezes et al. 1989); resíduos de mandioca (Manilal et al. 1991; Canoilas, 1991); beterraba forrageira (Gibbons & Westby, 1984). Yang (1988) sugere, no entanto, que para ser economicamente viável e competitiva, a bioconversão protéica tem de ser processada no meio rural.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial da produção de proteína em pedúnculos de caju fermentados por leveduras, em diferentes meios de cultivo.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido sob diferentes condições de substrato ou meio fermentativo, utilizando inóculo de levedura *Saccharomyces cerevisiae* (fermento Fleishmann), em laboratório do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-ESALQ/USP, no período outubro-94/março-95, constando dos seguintes tratamentos:

- 1- Pedúnculos de caju “in natura” - material fresco, sem classificação (a granel), não fermentado, sem inoculação de leveduras e sem suplementação mineral (Testemunha absoluta).
- 2- Pedúnculos de caju “in natura” - material fresco, sem classificação (a granel), inoculado com 5% de leveduras e sem suplementação mineral no meio.
- 3- Pedúnculos de caju “in natura” - material fresco, selecionado pelo sabor doce, inoculado com 5% de leveduras, em meio nutritivo correspondendo à metade da concentração utilizada por O’Connor(1992).

- 4- Pedúnculos de caju “in natura” - material fresco, selecionado pelo sabor azedo (ácido), inoculado com 5% de leveduras, em meio nutritivo correspondendo à metade da concentração utilizada por O’Connor(1992).
- 5- Pedúnculos de caju “in natura” - material fresco, sem classificação, inoculado com 5% de leveduras e com suplementação mineral (O’Connor, 1992) contendo apenas N, P, K e Mg, sem controle da acidez mas com medições de pH durante a fermentação.
- 6- Pedúnculos de caju “in natura” - material fresco, sem classificação, inoculado com 5% de leveduras e com suplementação mineral (O’Connor, 1992) contendo apenas N, P, K, e Mg, controlando a acidez ($\text{pH} \cong 4,4$) com calcário dolomítico contendo 44% de CaO, 25% de MgO e PRNT de 144%.
- 7- Pedúnculos de caju - farinha de pedúnculos com umidade inicial de 10%, reidratada para 80%, inoculada com 5% de leveduras, em meio com suplementação mineral (O’Connor, 1992) contendo apenas N e P e com acidez controlada ($\text{pH} \cong 4,4$).

Nos tratamentos com fermentação, a levedura foi inoculada no primeiro ciclo. Os ciclos fermentativos foram repetidos quatro vezes, havendo situações de até doze ciclos, com determinações de proteína bruta no final de cada ciclo. Empregou-se a fermentação do tipo submersa, com agitações esporádicas para facilitar a oxigenação. A levedura utilizada apresentou cerca de 46% de proteína bruta (base seca) e 70% de umidade.

Para cada ensaio foi obedecida a seqüência: pesagem da massa de pedúnculos de caju, trituração em liquidificador, adição de nutrientes, inoculação da levedura no meio pastoso, e novamente batida no liquidificador para homogeneização da pasta. O material foi posto em bandejas retangulares de alumínio formando uma camada de aproximadamente 2 cm de espessura e colocado em estufa com temperatura regulada em $32 \pm 1,0$ °C. No final dos ciclos de fermentação foram coletadas amostras e transferidas para estufa a 65 °C até peso constante, para determinação de nitrogênio total e nitrogênio mineral.

O nitrogênio total foi determinado pelo método semimicro Kjeldahl (Tedesco et al. 1985). A extração de nitrogênio mineral ($\text{NH}_4 + \text{NO}_3 + \text{NO}_2$) foi efetuada com solução de KCL 1N, seguida de destilação/determinação semelhante à do nitrogênio total. Pela diferença entre nitrogênio total e nitrogênio mineral calculou-se o nitrogênio orgânico, cujo valor multiplicado pelo fator 6,25 resultou no teor de proteína bruta.

Em quatro tratamentos foi determinada a composição de nutrientes totais: fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, zinco, cobre, ferro, manganês e boro, para avaliação da qualidade dos materiais fermentados, como ração concentrada. O boro foi extraído por digestão seca (incineração) e os demais por digestão nitro-perclórica.

O ensaio teve uma análise similar ao delineamento inteiramente casualizado, com sete tratamentos (meios fermentativos) e quatro repetições, correspondendo aos quatro primeiros ciclos fermentativos. A avaliação dos sistemas fermentativos foi realizada pela análise de variância dos resultados de proteína bruta com teste F ($P < 0,05$) e comparação das percentagens médias de proteína pelo teste de Tukey ao mesmo nível de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os tratamentos apresentaram incrementos significativos nos teores de proteína bruta (Tabela 1), em relação ao controle, pedúnculo de caju “in natura” não fermentado.

Não foi observada diferença significativa nos teores de proteína bruta obtidos das fermentações de pedúnculos de caju frescos, quer doces ou azedos, nem com acidez controlada, quando todos os cultivos foram efetuados em meio suplementado com minerais. Maior potencial de rendimento protéico foi apresentado pela fermentação de pedúnculos frescos em meio com suplementação mineral e acidez controlada, quando comparado com pedúnculos secos, reidratados e fermentados sob as mesmas condições. A diferença é provável que esteja relacionada com alguma perda de açúcar do substrato, durante a secagem natural no campo.

A fermentação de pedúnculos secos reidratados apresentou rendimento protéico aproximado de 20%, que não diferiu ($P < 0,05$) do obtido com a fermentação de pedúnculos frescos sem adição de nutrientes. Foi, porém, superior em quase 3% ao teor protéico determinado quando não houve controle de acidez no meio fermentativo, que por sua vez rendeu quantidade de proteína que não diferiu da obtida com o meio sem suplementação mineral.

TABELA 1 - Teores médios de proteína bruta em pastas de pedúnculos de caju fermentadas em diferentes meios de cultivo.

N.º pedúnculo	Tratamentos		Proteína bruta (% base seca) ¹
	Controle de acidez	Supl. mineral	
1. Fresco/a granel	Natural, não fermentado	(Testemunha)	6,5 D
2. Fresco/a granel	Sem	Sem	18,1 BC
3. Fresco/doce	Com	Com	23,4 A
4. Fresco/azedo	Com	Com	23,8 A
5. Fresco/a granel	Sem	Com	17,0 C
6. Fresco/a granel	Com	Com	22,2 A
7. Seco/a granel ²	Com	Com	19,8 B
Teste - F ($P < 0,01$)			150,36
Coeficiente de variação (%)			5,23
H.S.D. (5%)			5,25

¹Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si ($P < 0,05$).

²Material reidratado para 80% de umidade.

Entre os meios fermentativos constataram-se limitações no potencial de conversão protéica pelas leveduras, tanto pela condição de acidez quanto pela disponibilidade de nutrientes no meio (Tabelas 1 e 2). O tratamento sem controle da acidez foi o de menor desempenho, com obtenção de menores valores de proteína bruta (Tratamento 5). Atenção deve ser dada ao pH nas

massas de pedúnculos de caju em fermentação, pois, embora um elevado índice de acidez previna a contaminação do meio por microrganismos como bactérias, o abaixamento acentuado ($\text{pH} < 3,5$) poderá ser crítico e causar prejuízo reduzindo a eficiência de conversão protéica da levedura (Burrows, 1970). Neste estudo, quando a acidez não foi controlada, houve uma redução acima de 5% no teor de proteína bruta obtida. Nessa condição, observou-se um contínuo abaixamento de pH, após cada ciclo fermentativo, partindo inicialmente de 3,7 e atingindo 2,7 após o décimo ciclo; com a acidez controlada, o pH manteve-se em torno de 4,4.

Considerando os teores iniciais de umidade e proteína no substrato e inóculo observou-se um ganho líquido médio, em proteína bruta, entre 59g e 127g por kg de pasta seca de pedúnculo de caju, com os diversos meios fermentativos utilizados. Esses valores foram mais expressivos do que os obtidos por Menezes et al. (1989), entre 50,8g e 53,7g de proteína por kg de massa seca, o que é explicável por se tratar de substrato, microrganismo e tipo de fermentação diferentes, correspondendo, respectivamente, o dos referidos autores a bagaço de laranja, fungos (*Aspergillus* e *Rhizopus*) e fermentação em substrato sólido.

Na pasta de pedúnculos de caju frescos, a umidade média inicial foi de 85,2%, elevando-se após 24 horas de fermentação para 90,3% a 92,1%. Esse aumento de umidade pode ocorrer devido aos produtos da reação do metabolismo da levedura quando da quebra de carboidratos, resultando em massa celular, dióxido de carbono e água.

Os processos fermentativos com controle da acidez proporcionaram teores de proteína na massa seca de pedúnculos de caju em torno de 20%. Resultados similares foram obtidos por Manilal et al. (1991) e Gibbons & Westby (1984), em torno de 20% de proteína em fermentações de amido de mandioca e beterraba forrageira, respectivamente. A vantagem, neste trabalho, foi a redução do tempo de conversão protéica em até 24 horas, em relação ao dos referidos autores.

Comparada a fermentação de resíduos de batata-doce por *Saccharomyces* sp, efetuada por Yang (1988), obtendo, no máximo, 14% de proteína, ou a fermentação de resíduos de farinha de mandioca por *Candida sorboxylosa*, realizada por Canoilas (1991), obtendo 3,0% de

proteína, os resultados deste trabalho foram mais promissores. As diferenças nos valores de proteína obtidos podem ser atribuídas à facilidade de degradação dos carboidratos contidos no caju. Açúcares como glucose e frutose são incorporados diretamente na via glicolítica do metabolismo da levedura.

Analisando a composição de nutrientes nas massas de caju fermentadas (Tabela 2) observa-se que com a adição de nutrientes ao meio tem-se um correspondente enriquecimento, sendo mais expressivos os aumentos de nitrogênio, fósforo, cálcio, enxofre e ferro.

TABELA 2 - Composição de nutrientes totais nas pastas de pedúnculos de caju fermentadas em diferentes meios de cultivo.

Tratamentos N.º fermentação	Macronutrientes(%)						Micronutrientes (mg/kg)					
	N	P	K	Ca	Mg	S	Zn	Cu	Fe	Mn	B	
1. Testemunha (não fermentado)	1,05	0,08	1,06	0,08	0,06	0,10	24	29	445	9	-	
2. Sem mineral e sem controle e acidez	2,91	0,27	1,63	0,08	0,12	0,20	24	24	111	12	-	
6. Com mineral e acidez controlada	3,51	1,14	1,80	3,38	0,29	1,45	45	59	132	39	10	
7. Pedúnculo seco, reidratado	3,40	0,74	1,45	1,90	0,20	1,07	82	55	898	31	10	

¹ Material reidratado para 80% de umidade, com acidez controlada e suplementação mineral de nitrogênio e fósforo.

O nitrogênio e o fósforo no meio fermentativo estão entre os principais fatores que influem no rendimento e propriedades da levedura (Burrows, 1970). A relação cálcio/fósforo variou de 0,30 no meio fermentativo ao natural até 2,96 no meio com suplementação mineral e acidez controlada em substrato de pedúnculos frescos (Tabela 2).

A economicidade da bioconversão protéica está na dependência de vários fatores; o processamento em campo para torná-la viável (Yang, 1988) influi principalmente na redução de custos de transporte.

Dependendo da proporção de inóculo de levedura utilizada, esse fator pode assumir custos relevantes no sistema de produção, haja vista que o preço do fermento no comércio é de aproximadamente R\$ 14,70/kg (base seca). Entretanto, o custo referente à aquisição do inóculo pode ser diluído em vários ciclos fermentativos, com os ciclos seguintes inoculados pela produção dos ciclos anteriores.

CONCLUSÕES

O potencial máximo de conversão protéica em pedúnculos de caju fermentados por leveduras ficou em média de 23,1% de proteína bruta e foi obtido com o material fresco em meio com suplementação mineral e com acidez controlada.

O sabor doce ou azedo, atribuído ao pedúnculo de caju, não influi na síntese de proteína pela levedura.

O controle da acidez ($\text{pH} \cong 4,4$) e a suplementação mineral do meio fermentativo possibilitaram a obtenção de um produto com maior concentração de proteína bruta.

O potencial de enriquecimento protéico apresentado por pedúnculos de caju frescos foi maior do que o de pedúnculos secos reidratados.

Com pedúnculos secos de caju foi obtido um teor médio de 19,8% de proteína bruta, superior ao conseguido com pedúnculos de caju fresco em meio nutritivo sem controle da acidez.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BURROWS, S. Baker's Yeast. In: ROSE, A. H.; HARRISON, J.S. (ed). **The Yeasts**, London: Academic Press, 1970. p.349-419. v.3.
- CANOILAS, L. M. **Enriquecimento protéico de resíduos de farinha de mandioca pelo desenvolvimento de leveduras**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1991. 110p. Tese de Mestrado.
- GIBBONS, W. R.; WESTBY, C. A. A continous, farm-scale, solid-phase fermentation process for fuel ethanol and protein feed production from fodder beets. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v.26, p.1098-1107. 1984.
- LOPES NETO, A. **A agroindústria do caju no Nordeste do Brasil e em outros países grandes produtores**. Fortaleza: BNB-ETENE, 1981. 472p.
- MANILAL, V. B.; NARAYANAN, C. S.; BALAGOPALAN, C. Cassava starch effluent treatment with concomitant scp production. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v.7, p.185-190, 1991.
- MENEZES, T. J. B.; SALVA, J. G.; BALDINI, V. L.; PAPINI, R. S.; SALES, A. M. Protein enrichment of citrus wastes by solid substrate fermentation. **Process Biochemstry**, London, p.167-171, oct. 1989.
- O'CONNOR, G. M. Design and evaluation of control strategies for high cell density fermentations. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v.39, p.293-304, 1992.
- PARK, S.; RAMIREZ, W. F. Dynamics of foreign protein secretion from *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v.33, p.272-281, 1989.
- PEPLER, H. J. Food Yeasts. In: ROSE, A. H.; HARRISON, J. S.(ed). **The Yeasts**, London: Academic Press, 1970. p.421-462. v.3.

- TEDESCO, M. J.; VOLKWEISS, S. J.; BOHNEN, H. **Análises de solo, plantas e outros materiais.** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1985. 188p. (UFRS.Boletim Técnico, 5).
- WORGAN, J. T. Protein production by microorganisms from carbohydrate substrates. In: JONES, J. G. W. (ed). **The biological efficiency of protein production.** Cambridge: University Press, 1973. p. 339-371.
- YANG, S. S. Protein enrichment of sweet potato residue with amylolytic yeasts by solid state fermentation. **Biotechnology and bioengineering**, New York, v.32, p.886-890, 1988.