



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
DOUTORADO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS

**ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DA PALMA FORRAGEIRA
(*Opuntia ficus-indica* Mill): ESTUDO EXPERIMENTAL DE
AMPLIAÇÃO DE ESCALA**

Ana Regina Nascimento Campos

Campina Grande
2008

Ana Regina Nascimento Campos

**ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DA PALMA FORRAGEIRA
(*Opuntia ficus-indica* Mill): ESTUDO EXPERIMENTAL DE
AMPLIAÇÃO DE ESCALA**

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.

Orientadores: Flávio Luiz Honorato da Silva
Líbia de Sousa Conrado Oliveira

Campina Grande
2008

Ana Regina Nascimento Campos

ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DA PALMA FORRAGEIRA (*Opuntia ficus-indica* Mill): ESTUDO EXPERIMENTAL DE AMPLIAÇÃO DE ESCALA

Área de concentração: Desenvolvimento de Processos

Tese Aprovada em 08 de maio de 2008

Banca Examinadora:

Flávio Luiz Honorato da Silva - UFCG

Orientador

Líbia de Sousa Conrado Oliveira - UFCG

Orientadora

Iracema Oliveira Moraes - FTPTAT

Examinadora

Josivanda Palmeira Gomes - UFCG

Examinadora

Lúcia de Fátima Araújo - EMEPA/PB

Examinadora

Roberto Germano Costa - UFPB

Examinador

Campina Grande
2008

*A Renato Alexandre e
Rennan, pelo incentivo e
carinho.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, sem O qual nada seria possível, e através Dele venci mais uma etapa de minha vida.

A minha família que tornou possível a realização deste trabalho.

A meus orientadores, Prof. Flávio Luiz Honorato da Silva e Prof^ª. Líbia de Sousa Conrado Oliveira, pela orientação e confiança ao longo desta pesquisa.

A Marinévea Medeiros de Oliveira, pela amizade, incentivo constante e colaboração.

Ao Prof. José Pires Dantas, pela participação e valiosas sugestões.

Aos “voluntários” do LEEa: Aldrighi, Akleino, Cláudia, Emanuelle, Jaciara.

Ao Laboratório de Pesquisas do Departamento de Química da UEPB.

Ao laboratório da EMBRAPA/Algodão.

Aos colegas do Laboratório Engenharia Química.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro a pesquisa e incentivo financeiro.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para esta construção.

“Ninguém vai entender os problemas do semi-árido nordestino, ou mesmo falar nas soluções, sem conviver e experimentar, por um longo período, o meio ambiente dessa região”

Novely, 1982

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS E/OU SIGLAS.....	xii
CAPÍTULO 1	
1. INTRODUÇÃO.....	2
1.2. Objetivo.....	5
1.2.1. Objetivo geral.....	5
1.2.2. Objetivos específicos.....	5
CAPÍTULO 2	
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
2.1. Palma forrageira	7
2.2. Fermentação semi-sólida (FSS).....	12
2.2.1. Parâmetros do processo.....	14
2.2.1.1. Substrato.....	14
2.2.1.2. Temperatura.....	15
2.2.1.3. pH.....	16
2.2.1.4. Aeração.....	17
2.2.1.5. Umidade e atividade de água.....	17
2.2.1.6. Microrganismos.....	19
2.2.1.6.1. Estado da arte sobre enriquecimentos protéicos utilizando microrganismos.....	21
2.2.1.6.1.1. Histórico do estudo da FSS no LEB/UAEQ/UFCG.....	23
2.2.3. Biorreator.....	24
2.2.3.1. Estado da arte de ampliação de escala de biorreatores para FSS.....	26

CAPÍTULO 3	30
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3.1. Substrato	32
3.2. Microrganismo.....	33
3.3. Fonte de nitrogênio	33
3.4. Fermentação.....	34
3.5. Biorreator.....	34
3.5.1. Bandeja.....	35
3.5.2. Tambor rotativo.....	39
3.6. Caracterização física e físico-química.....	39
3.6.1. Análises físicas	40
3.6.2. Análises físico-químicas	44
3.7. Aumento protéico	45
3.8. Planejamento fatorial	47
3.9. Tempo de armazenamento do produto final.....	
CAPÍTULO 4	49
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
4.1. Caracterização dos cladódios da palma forrageira.....	49
4.1.1. Caracterização física	51
4.1.2. Caracterização química	53
4.2. Isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira	
4.2.1. Estudo das isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira <i>in natura</i>	53
4.2.2. Estudo das isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente	64
4.2.2.1. Calor isostérico de adsorção da palma forrageira enriquecida nutricionalmente.....	75
	79
4.2.3. Estudo da Histerese.....	81
4.2.4. Isotermas <i>in natura</i> X enriquecido	83
4.3. Estudo cinético do enriquecimento nutricional da palma forrageira	83
4.3.1. Estudo preliminar do processo de enriquecimento nutricional.....	

4.3.2. Estudo do enriquecimento nutricional com a utilização de diferentes biorreatores.....	95
4.3.2.1. Bandeja.....	96
4.3.2.2. Tambor rotativo.....	105
4.3.2.3. Planejamento fatorial para o estudo do enriquecimento protéico com diferentes biorreatores.....	112
4.3.2.3.1. Planejamento fatorial para o estudo do enriquecimento protéico utilizando o biorreator bandeja.....	112
4.3.2.3.2. Planejamento fatorial para o estudo do enriquecimento protéico utilizando o biorreator tambor rotativo.....	119
4.3.3. Considerações gerais.....	125
4.3.4. Caracterização química da palma forrageira enriquecida nutricionalmente.....	126
4.3.5. Tempo de armazenamento do produto final.....	129
CAPÍTULO 5	132
5. CONCLUSÕES.....	
CAPÍTULO 6	135
6. PERSPECTIVAS.....	
CAPÍTULO 7	137
7. REFERÊNCIAS.....	
	153
APÊNDICE A	

RESUMO

As condições da região semi-árida do Nordeste brasileiro têm levado os criadores a utilizarem a palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) como alimento básico para os seus rebanhos, uma vez que a sua utilização é possível durante todo o ano, principalmente na ocorrência de estiagens prolongadas. No entanto, a palma apresenta baixo teor protéico e matéria seca quando comparado a outras forragens utilizadas, o que traz conseqüências desfavoráveis ao rebanho, quando se faz uso exclusivo dessa forragem. Através de pesquisas, em escala de bancada, realizadas no LEB, UAEQ/CCT/UFMG, o processo fermentativo semi-sólido mostrou-se tecnicamente viável para o enriquecimento protéico da palma. A partir dos resultados alcançados por estas pesquisas, verificou-se que existe a possibilidade de realização de sua ampliação de escala experimental, utilizando metodologias simples e de fácil aplicação no campo. Este trabalho foi realizado com o objetivo de estudar a ampliação de escala experimental do processo de enriquecimento nutricional (protéico, mineral e energético) da palma forrageira com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, através da fermentação semi-sólida, visando à produção de um suplemento nutricional para ração animal. Estudou-se também a influência da adição de uréia associada à adição da levedura sobre o teor de proteína bruta (PB) e aumento protéico (AP), com o uso de biorreatores bandeja e tambor rotativo. 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 24 h de fermentação. Com as análises dos dados experimentais de estudos posteriores verificou-se que tanto com a utilização de bandejas como do tambor rotativo as condições em que foram alcançadas os maiores percentuais de PB e de AP foram as mesmas, sendo: concentração de leveduras de 3% e concentração de uréia de 5%. Nessas condições as fermentações realizadas nos dois biorreatores alcançaram em média 45% de PB, o que representa um AP em torno de 6 vezes, tendo como base o teor de proteína bruta da palma *in natura*. Com relação ao tempo, nas fermentações realizadas em bandejas o tempo ótimo foi de 8 h e no tambor rotativo esse tempo foi reduzido para 4 h. A palma enriquecida poderá ser utilizada como suplemento nutricional para alimentação animal, pois obedece às normas estabelecidas pela NRC (1989) e pode substituir parcialmente as rações convencionais tornando-se uma alternativa de barateamento dos custos aos produtores. Para o armazenamento da palma enriquecida é necessário que a faixa ideal de atividade de água esteja compreendida entre 0,25-0,35, que corresponde a uma umidade (b.s.) menor que 0,03, eliminando, desta forma, qualquer crescimento de microrganismos.

Palavras-chaves: fermentação semi-sólida; palma forrageira; *Saccharomyces cerevisiae*

ABSTRACT

Conditions in the semi-arid region of northeastern Brazil has made farmers use cactus pear (*Opuntia ficus-indica* Mill) as a basic feed for their herds, since its use is possible all year round, mainly during long periods of drought. However, this cactus has a low protein and dry matter content when compared to other fodders used, and this brings unfavorable consequences to the herds, when used exclusively. Through research, in laboratory scale, performed at LEB/UAEQ/CCT/UFCG, the solid state fermentation process showed itself technically viable for the protein enrichment of the cactus. From the results obtained from these researches, it was verified that there is the possibility of performing its expansion to an experimental scale up, using simple methodologies that are of easy usage in the field. The objective of this research was to study the enlargement of the experimental scale up of the nutritional (protein, mineral, and energy) enrichment process of the fodder cactus pear with yeast *Saccharomyces cerevisiae*, through solid state fermentation, aiming at producing a nutritional supplement for animal feed. The influence of adding urea associated to the addition of the yeast over the crude protein (PC) content and the protein increase (PI) were also studied, as well as the use of tray bioreactors and rotating drums. The results of the preliminary tests suggest that the temperature of fermentation was a variable that didn't present statistical influences over the answers studied, and that the greatest PI was found after 24 h of fermentation. With the analysis of the experimental data of posterior studies, it was verified that both with the usage of trays and with rotating drums, the conditions in which greater percentages of PC and PI were reached were the same, being: yeast concentration 3% and urea concentration 5%. In these conditions the fermentations performed in the two bioreactors reached an average of 45% of PC, which represents a PI around 6 times, having as base the content of crude protein of the natural cactus. In relation to time, in the fermentations performed in trays, the best time was 8 h and in the rotating drums this time was reduced to 4 h. The enriched cactus may be used as a nutritional supplement for animal feed, for it obeys the norms established by the NRC (1989) and can partially substitute conventional feed, becoming an alternative for decreasing the farmers' costs. To store enriched cactus it is necessary that the ideal range of water activity be between 0.25–0.35, which corresponds to a moisture content (d.b.) less than 0.03, thus eliminating, any growth of microorganisms.

Key Words: solid state fermentation; cactus pear; *Saccharomyces cerevisiae*

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1.	Palma forrageira (<i>Opuntia ficus-indica</i> Mill).....	8
Figura 3.1.	Etapas do processo de enriquecimento nutricional da palma forrageira.....	30
Figura 3.2.	Local de coleta da palma forrageira.....	31
Figura 3.3.	Palma forrageira cortada em pedaços.....	32
Figura 3.4.	Mucilagem da palma forrageira.....	32
Figura 3.5.	Biorreator bandeja.....	35
Figura 3.6.	Projeto do biorreator tambor rotativo, vista horizontal.....	37
Figura 3.7.	Projeto do biorreator tambor rotativo, vista frontal.....	38
Figura 3.8.	Biorreator tambor rotativo.....	39
Figura 4.1.	Influência da temperatura nas isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira <i>in natura</i>	53
Figura 4.2.	Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira <i>in natura</i> , na temperatura de 30 °C, ajustada pelo modelo de GAB.....	56
Figura 4.3.	Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira <i>in natura</i> , na temperatura de 35 °C, ajustada pelo modelo de GAB.....	57
Figura 4.4.	Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira <i>in natura</i> , na temperatura de 40 °C, ajustada pelo modelo de GAB.....	57
Figura 4.5.	Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira <i>in natura</i> , na temperatura de 30 °C, ajustada pelo modelo de BET.....	58
Figura 4.6.	Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira <i>in natura</i> , na temperatura de 35 °C, ajustada pelo modelo de BET.....	59
Figura 4.7.	Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira <i>in natura</i> , na temperatura de 40 °C, ajustada pelo modelo de BET.....	59

Figura 4.8.	Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira <i>in natura</i> , na temperatura de 30 °C, ajustada pelo modelo de Henderson.....	60
Figura 4.9.	Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira <i>in natura</i> , na temperatura de 35 °C, ajustada pelo modelo de Henderson.....	60
Figura 4.10.	Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira <i>in natura</i> , na temperatura de 40 °C, ajustada pelo modelo de Henderson.....	61
Figura 4.11.	Distribuição dos resíduos para o modelo de GAB, em função dos valores preditos.....	62
Figura 4.12.	Distribuição dos resíduos para o modelo de BET, em função dos valores preditos.....	63
Figura 4.13.	Distribuição dos resíduos para o modelo de Henderson, em função dos valores preditos.....	63
Figura 4.14.	Influência da temperatura nas isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente.....	65
Figura 4.15.	Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 30 °C, ajustada pelo modelo de GAB.....	67
Figura 4.16.	Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 35°C, ajustada pelo modelo de GAB.....	68
Figura 4.17.	Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 40 °C, ajustada pelo modelo de GAB.....	68
Figura 4.18.	Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 30 °C, ajustada pelo modelo de BET.....	69
Figura 4.19.	Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 35 °C, ajustada pelo modelo de BET.....	70
Figura 4.20.	Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira	

	enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 40 °C, ajustada pelo modelo de BET.....	70
Figura 4.21.	Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 30 °C, ajustada pelo modelo de Henderson.....	71
Figura 4.22.	Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 35 °C, ajustada pelo modelo de Henderson.....	72
Figura 4.23.	Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 40 °C, ajustada pelo modelo de Henderson.....	72
Figura 4.24.	Distribuição dos resíduos para o modelo de GAB, em função dos valores preditos.....	74
Figura 4.25.	Distribuição dos resíduos para o modelo de BET, em função dos valores preditos.....	74
Figura 4.26.	Distribuição dos resíduos para o modelo de Henderson, em função dos valores preditos.....	75
Figura 4.27.	Curvas de $\ln(a_w)$ versus $1/T$, baseadas na equação de Clausius Clapeyron, para diferentes níveis de umidade....	76
Figura 4.28.	Calor isostérico de adsorção em função da umidade da palma forrageira enriquecida proteicamente (os pontos representam os dados experimentais e a linha o modelo estudado).....	78
Figura 4.29.	Histerese das isotermas de dessorção e adsorção de umidade da palma forrageira <i>in natura</i> , na temperatura 30 °C.....	79
Figura 4.30.	Histerese das isotermas de dessorção e adsorção de umidade da palma forrageira <i>in natura</i> , na temperatura 35 °C.....	79
Figura 4.31.	Histerese das isotermas de dessorção e adsorção de umidade da palma forrageira <i>in natura</i> , na temperatura 40 °C.....	80
Figura 4.32.	Isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira <i>in</i>	

	<i>natura</i> e enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 30 °C.....	81
Figura 4.33.	Isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira <i>in natura</i> e enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 35 °C.....	82
Figura 4.34.	Isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira <i>in natura</i> e enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 40 °C.....	82
Figura 4.35.	Perfil do percentual de proteína bruta durante a FSS da palma forrageira, testes preliminares, Experimento 1.....	87
Figura 4.36.	Perfil do percentual de proteína bruta durante a FSS da palma forrageira, testes preliminares, Experimento 2.....	88
Figura 4.37.	Perfil do percentual de proteína bruta durante a FSS da palma forrageira, testes preliminares, Experimento 3.....	88
Figura 4.38.	Perfil do percentual de proteína bruta durante a FSS da palma forrageira, testes preliminares, Experimento 4.....	89
Figura 4.39.	Perfil do percentual de proteína bruta durante a FSS da palma forrageira, testes preliminares, Experimento 5.....	89
Figura 4.40.	Perfil do percentual de proteína bruta durante a FSS da palma forrageira, testes preliminares, Experimento 6.....	90
Figura 4.41.	Perfil do percentual de proteína bruta durante a FSS da palma forrageira, testes preliminares, Experimento 7.....	90
Figura 4.42.	Influência das variáveis independentes, temperatura de fermentação e concentração inicial de leveduras, sobre o teor de proteína bruta da palma forrageira.....	93
Figura 4.43.	Influência das variáveis independentes, concentração inicial de leveduras e temperatura de fermentação, sobre o aumento protéico da palma forrageira.....	94
Figura 4.44.	Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares redutores totais durante a FSS da palma forrageira em bandeja. Experimento 1.....	98
Figura 4.45.	Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares redutores totais durante a FSS da palma forrageira em bandeja. Experimento 2.	98

Figura 4.46.	Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares reductores totais durante a FSS da palma forrageira em bandeja. Experimento 3.....	99
Figura 4.47.	Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares reductores totais durante a FSS da palma forrageira em bandeja. Experimento 4.....	99
Figura 4.48.	Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares reductores totais durante a FSS da palma forrageira em bandeja. Experimento 5.....	100
Figura 4.49.	Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares reductores totais durante a FSS da palma forrageira em bandeja. Experimento 6.....	100
Figura 4.50.	Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares reductores totais durante a FSS da palma forrageira em tambor rotativo. Experimento 1.....	107
Figura 4.51.	Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares reductores totais durante a FSS da palma forrageira em tambor rotativo. Experimento 2.....	107
Figura 4.52.	Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares reductores totais durante a FSS da palma forrageira em tambor rotativo. Experimento 3.....	108
Figura 4.53.	Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares reductores totais durante a FSS da palma forrageira em tambor rotativo. Experimento 4.....	108
Figura 4.54.	Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares reductores totais durante a FSS da palma forrageira em tambor rotativo. Experimento 5.....	109
Figura 4.55.	Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares reductores totais durante a FSS da palma forrageira em tambor rotativo. Experimento 6.....	109
Figura 4.56.	Gráfico de Pareto para o percentual de proteína bruta, após 8 h de fermentação em biorreator bandeja.....	116
Figura 4.57.	Gráfico de Pareto para o aumento proteico, após 8 h de fermentação em biorreator bandeja.....	117

Figura 4.58.	Valores de proteína bruta observados experimentalmente versus valores preditos pelo modelo matemático linear sem curvatura (A) e com curvatura (B), no tempo de 8 h.....	118
Figura 4.59.	Valores de aumentos protéicos observados experimentalmente versus valores preditos pelo modelo matemático linear sem curvatura (A) e com curvatura (B), no tempo de 8 h.....	118
Figura 4.60.	Gráfico de Pareto para o percentual de proteína bruta, após 4 h de fermentação em biorreator tambor rotativo...	122
Figura 4.61.	Gráfico de Pareto para o aumento protéico, após 4 h de fermentação em biorreator tambor rotativo.....	123
Figura 4.62.	Valores de proteína bruta observados experimentalmente versus valores preditos pelo modelo matemático linear sem curvatura (A) e com curvatura (B), no tempo de 4 h..	124
Figura 4.63.	Valores dos aumentos protéicos observados experimentalmente versus valores preditos pelo modelo matemático linear sem curvatura (A) e com curvatura (B), no tempo de 4 h.....	124

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1.	Composição química de variedades da palma, expressa em porcentagem na base úmida.....	9
Tabela 2.2.	Composição química da palma em função da época do ano de colheita, expressa em porcentagem na base úmida.....	10
Tabela 2.3.	Composição química da palma forrageira gigante (<i>Opuntia ficus-indica</i> Mill), expressa em Kg de matéria seca.....	11
Tabela 3.1.	Matriz do planejamento fatorial 2^2	46
Tabela 3.2.	Valores reais e codificados das variáveis do planejamento fatorial 2^2 , utilizadas nos testes preliminares.....	46
Tabela 3.3.	Valores reais e codificados das variáveis independentes do planejamento fatorial 2^2	47
Tabela 4.1.	Caracterização física dos cladódios da palma forrageira..	50
Tabela 4.2.	Caracterização química da palma forrageira <i>in natura</i>	52
Tabela 4.3.	Parâmetros de ajuste das isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira <i>in natura</i> para os diferentes modelos matemáticos.....	54
Tabela 4.4.	Parâmetros de ajuste das isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente para os diferentes modelos matemáticos.....	66
Tabela 4.5.	Resultados das regressões lineares das curvas do calor de sorção para cada X_{eq}	77
Tabela 4.6.	Variação da média dos valores de pH no decorrer do processo fermentativo da palma forrageira (testes preliminares.....	85
Tabela 4.7.	Valores de umidade (b.u.) das fermentações, com	

	diferentes temperaturas de fermentação e percentuais de concentração inicial de leveduras.....	86
Tabela 4.8.	Varição de proteína bruta e aumento protéico expressos na base seca da palma forrageira durante as fermentações realizadas nos testes preliminares.....	87
Tabela 4.9.	Matriz do planejamento fatorial 2^2	91
Tabela 4.10.	Varição da proteína bruta (b.s.) da palma forrageira durante o processo da fermentação semi-sólida, para os seis experimentos realizados, em biorreator bandeja.	96
Tabela 4.11.	Varição do percentual de açúcares redutores totais (b.s.) da palma forrageira durante o processo da fermentação semi-sólida, para os seis experimentos realizados, em biorreator bandeja.....	97
Tabela 4.12.	Aumento protéico da palma forrageira durante o processo da fermentação semi-sólida, para os seis experimentos realizados em biorreator bandeja.....	103
Tabela 4.13.	Varição da proteína bruta (b.s.) da palma forrageira durante o processo da fermentação semi-sólida, para os seis experimentos realizados em biorreator tambor rotativo.....	105
Tabela 4.14.	Varição do percentual de açúcares redutores totais (b.s.) da palma forrageira durante o processo da fermentação semi-sólida, para os seis experimentos realizados em biorreator tambor rotativo.....	106
Tabela 4.15.	Aumento protéico da palma forrageira durante o processo da fermentação semi-sólida, para os seis experimentos realizados em biorreator tambor rotativo...	111
Tabela 4.16.	Modelos de regressão linear para a proteína bruta, nos diferentes tempos de fermentação. Biorreator bandeja...	113
Tabela 4.17.	Modelos de regressão linear para o aumento protéico, nos diferentes tempos de fermentação. Biorreator bandeja.....	113
Tabela 4.18.	Modelos com curvatura para proteína bruta, nos	

	diferentes tempos de fermentação. Biorreator bandeja...	114
Tabela 4.19.	Modelos com curvatura para aumento protéico, nos diferentes tempos de fermentação. Biorreator bandeja...	115
Tabela 4.20.	Modelos de regressão linear para a proteína bruta, nos diferentes tempos de fermentação. Biorreator tambor rotativo.....	119
Tabela 4.21.	Modelos de regressão linear para o aumento protéico, nos diferentes tempos de fermentação. Biorreator tambor rotativo.....	120
Tabela 4.22.	Modelos com curvatura para proteína bruta, nos diferentes tempos de fermentação. Biorreator tambor rotativo.....	121
Tabela 4.23.	Modelos com curvatura para o aumento protéico, nos diferentes tempos de fermentação. Biorreator tambor rotativo.....	121
Tabela 4.24.	Valores da composição química e digestibilidade <i>in vitro</i> da palma forrageira <i>in natura</i> e enriquecida, com base no teor de matéria seca. Biorreator bandeja.....	126
Tabela 4.25.	Valores da composição química e digestibilidade <i>in vitro</i> da palma forrageira <i>in natura</i> e enriquecida, com base no teor de matéria seca. Biorreator tambor rotativo.....	127
Tabela 4.26.	Percentual de proteína bruta da palma forrageira enriquecida nutricionalmente durante armazenamento, expresso na base seca.....	130

LISTA DE ABREVIATURAS E/OU SIGLAS

- a, b - Parâmetros de ajuste do modelo matemático de Henderson
- AOAC - Association Official Analytical Chemists
- AP - Aumento Protéico
- a_w - Atividade de água, decimal
- b.s. - Base seca
- b.u. - Base úmida
- BET - BRUNAUER – EMMER - TELLER
- C - Constante de BET relacionada ao calor de sorção da camada molecular
- CCA - Centro de Ciências Agrárias
- CCT - Centro de Ciências e Tecnologia
- C_L - Concentração inicial de levedura
- DSER - Departamento de Solos e Engenharia Rural
- EB - Energia Bruta
- EE - Extrato Etéreo
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
- EMEPA - Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba
- ENN - Extrato Não Nitrogenado
- FDA - Fibra em Detergente Ácido
- FDN - Fibra em Detergente Neutro
- F_{Sm} - Fermentação submersa
- FSS - Fermentação semi-sólida
- FTPTAT - Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia André Tosello
- GAB - Guggenheim,-Anderson- de Bôer
- K - Parâmetro de ajuste do modelo matemático de GAB
- LEB - Laboratório de Engenharia Bioquímica
- m_f - Massa da amostra seca, g
- m_i - Massa inicial da amostra,
- n - Número de camadas moleculares
- NRC - National Research Council

P - Desvio médio relativo

Q_{st} - Calor isostérico de adsorção

R^2 - coeficiente de determinação

PB - Proteína Bruta

R - Constante universal dos gases ($0,4618 \text{ kJ (kg K)}^{-1}$)

T - Temperatura

UAEQ - Unidade Acadêmica de Engenharia Química

UFCG - Universidade Federal de Campina Grande

UFPB - Universidade Federal da Paraíba

V_{exp} - valor obtido experimentalmente

V_p - valor predito pelo modelo

X_{eq} - Conteúdo de umidade de equilíbrio, expresso em base seca

X_m - Conteúdo de umidade na monocamada molecular

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

As secas e as incertezas climáticas freqüentes na região semi-árida do Nordeste do Brasil constituem os fatores mais limitantes à produção animal. Devido as suas características, as cactáceas, destacando-se entre estas a palma forrageira, representam fonte de água e alternativa alimentar para as regiões sub-úmidas e semi-áridas (Cavalcante & Cândido, 2003).

A palma forrageira é hoje uma cultura totalmente incorporada à paisagem desta região, constituindo-se em um dos principais recursos forrageiros nos períodos de seca, especialmente nos estados de Alagoas, Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte (Ambiente Brasil, 2005). Bem adaptada morfo-fisiologicamente às condições do semi-árido, a palma possui grande quantidade de água, é rica em resíduos minerais como cálcio, magnésio, sódio e potássio e vitaminas A, C e do complexo B (Batista Filho, 2005). Apresenta elevado teor de carboidratos solúveis, além de um alto coeficiente de digestibilidade da matéria seca (Costa *et al.*, 1973; Santos *et al.*, 1992; Teixeira *et al.*, 1999); contudo, os baixos teores de matéria seca, fibras e proteína bruta, precisam ser considerados quando se utiliza essa forrageira como principal ingrediente nas dietas animais, em função de ser observado perda de peso, baixo desempenho, distúrbios metabólicos, especialmente diarreias e redução no teor de gordura do leite (Santana *et al.*, 1972; Matter, 1986; Santos *et al.*, 1990; Santos *et al.*, 1997; Perazzo Neto, 1999).

Em virtude desse baixo teor protéico recomenda-se fornecer a palma na dieta animal sempre associada a um suplemento protéico; no entanto o uso de concentrados comerciais para suplementação protéica na dieta dos animais aumenta os custos de produção da atividade pecuária na região.

Na tentativa de poder contribuir para o desenvolvimento sustentável desta região, estão sendo pesquisadas formas alternativas de aumentar o valor nutricional dessa fonte forrageira, através de um processo de enriquecimento protéico microbiano. Os microrganismos cultivados como fonte de proteína para consumo humano e animal são bactérias, algas e fungos (bolores e leveduras). Entre esses organismos processadores de proteínas, as leveduras se destacam pela sua alta eficiência na conversão, possibilidade de ser

cultivada em diversos tipos de substrato, possuir um elevado teor de proteína (45-60%), fácil obtenção e baixo custo, além de ser não patogênica.

O processo de enriquecimento protéico utilizando microrganismos pode ser realizado através de fermentação semi-sólida. Segundo Viniegra-González (1998), a fermentação semi-sólida apresenta diversas vantagens quando comparada 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. Correia (2004) compartilha da mesma opinião e afirma que o processo da fermentação semi-sólida pode ser realizado com equipamentos de controle relativamente simples e manuseio pouco sofisticado.

Diversos substratos têm sido enriquecidos proteicamente, com sucesso, por fermentação semi-sólida com microrganismos: pedúnculo de caju (Campos, 2003); resíduos de abacaxi (Suhet, 1999; Correia, 2004; Oliveira, 2007); casca de maracujá (Oliveira, 2007); farelo de trigo (Simas, 2004); mandioca (Canoilas, 1991); mandacaru (Araújo, 2004; Almeida, 2007); vagens de algaroba (Perazzo Neto, 1999) e palma forrageira (Perazzo Neto, 1999; Araújo, 2004).

Através de pesquisas em escala de bancada realizadas no Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) do Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Federal de Campina Grande (CCT/UFCG) o processo fermentativo semi-sólido mostrou-se tecnicamente viável para o enriquecimento nutricional da palma forrageira, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. A partir dos resultados alcançados por estas pesquisas, verificou-se a possibilidade de ampliação de escala experimental (*scale up*), utilizando metodologias simples e de fácil aplicação no campo.

No estudo do enriquecimento protéico em escala de bancada realizado por Araújo (2004), conseguiu-se aumentar em quatro vezes o teor de proteína bruta da palma forrageira. Com esse aumento protéico, a palma enriquecida pôde ser comparada a outras silagens usualmente utilizadas.

Diante da grande necessidade dos produtores em suplementar proteicamente a palma forrageira e da possibilidade de amenizar esse problema decidiu-se estudar a ampliação de escala deste processo, de

maneira que possa ser viável sua aplicação no campo. Dessa forma o produtor poderá enriquecer nutricionalmente a forragem de que dispõe em sua propriedade, diminuindo os custos com a suplementação protéica da alimentação dos animais, uma vez que não haveria despesas com aquisição, transporte e estocagem de concentrados protéicos comerciais.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo geral

Estudar a ampliação de escala experimental do processo de enriquecimento nutricional (protéico, mineral e energético) da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill), utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, através da fermentação semi-sólida, visando à produção de um suplemento nutricional enriquecido para ração animal.

1.2.2. Objetivos específicos

- Realizar testes preliminares para a seleção e avaliação de parâmetros do processo que deverão ser controlados durante a fermentação semi-sólida.
- Levantar as curvas de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura* e enriquecida nutricionalmente, nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C;
- Estudar a histerese das curvas de sorção (dessorção e adsorção) da palma forrageira *in natura*, nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C;
- Estudar o perfil do enriquecimento nutricional da palma forrageira, utilizando biorreator bandeja e tambor rotativo;
- Verificar os efeitos das variáveis independentes (concentração inicial de leveduras e concentração de fonte de nitrogênio) sobre o teor protéico no processo da fermentação semi-sólida;
- Estudar comparativamente o desempenho entre o biorreator bandeja e o tambor rotativo sobre o comportamento da fermentação semi-sólida;
- Avaliar, à temperatura ambiente, do teor protéico do produto final em função do tempo de armazenamento.

CAPÍTULO 2

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Este capítulo aborda informações gerais acerca da palma forrageira, além de dissertar sobre o processo da fermentação semi-sólida, destacando sua definição, alguns parâmetros que devem ser avaliados durante esse processo e biorreatores utilizados. Comenta também sobre o microrganismo utilizado neste trabalho, bem como relata estudos de enriquecimento protéico com microrganismos.

2.1. Palma forrageira

A palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) é uma cactácea de origem mexicana, tendo sido introduzida no Brasil por volta de 1880, no estado de Pernambuco, por meio de raquetes (cladódios) provenientes do Texas/EUA (Domingues, 1963). Inicialmente servia de suporte à criação da cochonilha, produtora do corante carmim, e expandiu-se, sendo hoje uma planta totalmente incorporada à paisagem semi-árida do Nordeste brasileiro (Data América, 2004). É um vegetal pertencente à Divisão *Magnoliophyta*; Classe *Magnoliatae*; Ordem *Caryophyllales*; Família *Cactaceae*; Gênero *Opuntia*; Espécie *Opuntia ficus-indica* Mill (Inglese & Barrios, 2001).

Morfologicamente é caracterizada por apresentar porte desenvolvido, raiz tipo fasciculada, caule (cladódios grossos e carnososuculentos) oblongos ou elípticos, planos, inermes ou com espinhos. Flores de tamanho médio da cor laranja ou amarela (Figura 2.1). A fruta é doce, suculenta, comestível, pode apresentar cor amarela, vermelha ou púrpura, com muita polpa e uma casca fina (Carvalho, 1999; Inglese & Barrios, 2001; Barbosa, 1998).

Estima-se que hoje existam cerca de 400 a 600 mil hectares de palma forrageira no Nordeste brasileiro, concentrados nos estados de Pernambuco, Paraíba, Alagoas, Rio Grande do Norte e Bahia (Timbau, 1987; Data América, 2004). A expansão da cultura deveu-se a sua capacidade de adaptação às condições do semi-árido, suportando grande período de estiagem devido às suas propriedades fisiológicas e por outro lado, à sua utilidade como fonte de

alimentação para os rebanhos, como alternativa devido à escassez de rações nos períodos mais secos (Data América, 2004).



Fonte: Batista Filho, 2005

Figura 2.1. Palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill).

No Nordeste brasileiro, predomina o plantio de três variedades de palma forrageira (gigante, redonda e miúda). Mendes (1986), Data América (2004) e Inglese & Barrios (2001) descrevem a palma gigante (*Opuntia ficus-indica* Mill) como sendo uma cactácea de porte bem desenvolvido, com crescimento predominantemente na vertical, com pouca ramificação, os cladódios de formato elíptico, aspecto carnosos. É considerada entre as três variedades a mais produtiva e a mais cultivada no Nordeste brasileiro, por ser a mais apropriada a situações de solo e temperaturas mais desfavoráveis. A palma redonda (*Opuntia stricta*) é descrita por esses autores como planta que apresenta um porte mais baixo que a anterior, se desenvolve na forma de torceira e tem caule muito ramificado e é mais palatável que a gigante. A palma miúda ou doce (*Nopalea cochenillifera*) 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. Sendo, porém a mais susceptível aos rigores climáticos e a cochonilha de escamas, e mais recomendada para o Agreste.

A composição química da palma varia entre as diversas variedades, e mesmo entre amostras de uma mesma variedade, em função, entre outras

influências, 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; Data América, 2004).

Pesquisadores comparando diferentes níveis de cladódios encontraram uma maior percentagem de matéria seca e menor teor de proteína bruta para os cladódios de segunda ordem quando comparado aos cladódios mais jovens (Nobel *et al.*, 1987).

Os efeitos da variedade da palma sobre sua composição química, podem ser observados, através dos dados encontrados na Tabela 2.1, que apresenta os valores da composição química de três variedades de palma: grande, redonda e miúda. Os resultados da influência da época de colheita da palma sobre a composição química, descritos por Perazzo Neto (1999) são expressos na Tabela 2.2.

Tabela 2.1. Composição química de variedades da palma, expressa em percentagem na base úmida

	Palma forrageira		
	Gigante <i>Opuntia ficus-indica</i> Mill	Redonda <i>Opuntia stricta</i>	Miúda <i>Nopalea cochenillifera</i>
Umidade (%)	92,08	92,88	90,51
Proteína bruta (%)	0,55	0,53	0,89
Resíduo mineral (%)	1,70	1,40	2,15
Extratos não nitrogenados (%)	1,72	1,39	2,32
Fósforo em P ₂ O ₅ (%)	0,09	0,47	0,14
Cálcio em CaO (%)	0,64	0,57	0,79

Fonte: Gomes (1977)

Tabela 2.2. Composição química da palma em função da época do ano de colheita, expressa em percentagem na base úmida

	Época do ano	
	Verão/Outono	Inverno/Primavera
Umidade (%)	83,0	92,5
Proteína bruta (%)	0,45	0,35
Cinzas (%)	2,7	2,0

Adaptado de Perazzo Neto (1999)

Segundo Batista Filho (2005) na palma pode ser encontrado 17 tipos de aminoácidos, oito deles essenciais à alimentação humana. Além de ser rica em Vitamina A, apresenta também o complexo B e a Vitamina C, em quantidades muito superiores às encontradas em alimentos como repolho, couve, beterraba, banana e maçã.

Os níveis de carboidratos solúveis são considerados altos, e esses por sua vez constituem a principal fonte energética dos alimentos (Santos *et al.*, 1997). Reyes (1978) encontrou na composição química da mucilagem das raquetes da palma gigante, os seguintes açúcares solúveis: glicose, frutose e sacarose e os polissacarídeos: D-xilose, D-arabinose, D-galactose e ácido D-galacturônico. A Tabela 2.3 apresenta os valores da composição química da palma, variedade gigante. Os dados estão expressos em Kg de matéria seca.

A palma possui em termos de nutrientes digestíveis totais, valor próximo aos de silagens de milho e sorgo, no entanto, o baixo consumo de matéria seca por animal é considerado fator limitante quando se utiliza essa forragem como alimento exclusivo nas dietas dos animais (Farias *et al.*, 1984, Lima *et al.*, 1981). Apresenta também altos teores de cinza na matéria seca, com destaque para o cálcio, potássio e fósforo (Santos *et al.*, 1997, Batista Filho, 2005).

Contudo, baixos teores de matéria seca, fibra em detergente neutro e proteína bruta, precisam ser considerados no momento em que se utiliza essa forrageira como principal ingrediente nas dietas do gado leiteiro. Nesta circunstância, baixo consumo de matéria seca pelo animal pode levar a perda

de peso, baixo desempenho, distúrbios metabólicos, especialmente diarreias e redução no teor de gordura do leite (Santana *et al.*, 1972; Matter, 1986; Santos *et al.*, 1990; Santos *et al.*, 1997). Santos *et al.* (2001) comentam que provavelmente é esta elevada umidade que limita o consumo pelo controle físico, por meio do enchimento do rúmen. Por outro lado, os mesmos autores ressaltam que a elevada umidade observada na palma forrageira é uma característica importante, tratando-se de região semi-árida, pois atende grande parte das necessidades de água dos animais, principalmente no período da estiagem.

Tabela 2.3. Composição química da palma forrageira gigante (*Opuntia ficus-indica* Mill), expressa em Kg de matéria seca

	Palma gigante <i>Opuntia ficus-indica</i> Mill
Matéria seca (g/ Kg)	144
Cinzas (g/ Kg MS)	146
Extrato etéreo (g/ Kg MS)	19
Fibra em detergente neutro (g/ Kg MS)	281
Fibra em detergente ácido (g/ Kg MS)	176
Carboidratos totais (g/ Kg MS)	771
Cálcio (g/ Kg MS)	41
Fósforo (g/ Kg MS)	5
Magnésio (g/ Kg MS)	13
Ferro (mg/ Kg MS)	66
Cobre (mg/ Kg MS)	8
Zinco (mg/ Kg MS)	22
Manganês (mg/ Kg MS)	86

Fonte: Batista *et al.* (2002)

Em virtude do baixo teor protéico, pesquisadores recomendam fornecer a palma na dieta animal sempre associada a um suplemento protéico. Kock (1980), também recomenda fornecer a palma como até 50% da dieta. De acordo com Shoop *et al.* (1977) animais podem consumir até 10% do seu peso vivo de palma se eles receberem suplemento protéico.

Embora a palma apresente limitações quanto aos valores nutricionais, quando comparada a outras culturas forrageiras tradicionais, oferece água, mucilagem, resíduos minerais, alto coeficiente de digestibilidade da matéria seca e alta produtividade, que comprovadamente fazem dela uma opção para a região Nordeste (Costa *et al.*, 1973; Santos *et al.*, 1992; Teixeira *et al.*, 1999).

Santos *et al.* (1992) estudando o efeito do período de armazenamento pós-colheita sobre o teor de matéria seca e composição química das palmas forrageiras, verificaram que o armazenamento por um período de até 16 dias em galpão coberto e aberto, não afetou a composição química da palma, não havendo perdas aparentes de matéria seca, proteína bruta e carboidratos solúveis nas variedades gigante, redonda e miúda. Sugerindo que maior quantidade de palma possa ser colhida independentemente de sua utilização imediata, diminuindo, assim, os custos envolvidos nas atividades de corte e transporte.

2.2. Fermentação semi-sólida (FSS)

No Brasil, em nível industrial, o processo de fermentação submersa (FSm) continua sendo o principal sistema de geração de produtos biotecnológicos, sendo insignificante o número de empresas que empregam a fermentação semi-sólida para estes fins (Schmidell *et al.*, 2001); no entanto, a fermentação semi-sólida (FSS) nos últimos anos, tem sido vista com interesse renovado uma vez que apresenta algumas vantagens sobre a fermentação submersa (Oojikaas, 2000; Soccol & Vandenberghe, 2003). Por ser um processo ainda não muito difundido, serão apresentadas algumas das definições encontradas na literatura.

Fermentação em estado sólido, fermentação em substrato sólido, cultivo semi-sólido, fermentação em meio semi-sólido ou simplesmente fermentação semi-sólida, é o processo que se refere à cultura de microrganismos sobre ou dentro de partículas em matriz sólida, onde o conteúdo de líquido ligado a ela está a um nível de atividade de água que, por um lado, assegure o crescimento e metabolismo das células e, por outro, não exceda à máxima capacidade de ligação da água com a matriz sólida (Schmidell *et al.*, 2001).

Segundo Moraes (2001) fermentação semi-sólida é um processo microbiano que se desenvolve na superfície de materiais sólidos, biodegradáveis ou não, que apresentam a propriedade de absorver ou de conter água, com ou sem nutrientes solúveis, sendo necessário que os microrganismos cresçam com nutrientes difusíveis sob ou sobre a interface gás-sólido.

Pandey (2003) define fermentação semi-sólida como a fermentação que envolve sólidos em ausência (ou quase ausência) de água livre; porém o substrato deve possuir umidade necessária para garantir o crescimento e metabolismo de microrganismos.

Fermentação semi-sólida pode ser caracterizada por um processo de fermentação que ocorre em um meio sólido com um baixo teor de atividade de água, tipicamente 0,40-0,90, que ocorre em um estado asséptico e natural (Nigam & Singh, 1994; Gervais *et al.*, 1996).

Fermentação semi-sólida pode ser simplesmente definida como qualquer processo de fermentação que permite o crescimento de microrganismos em materiais sólidos, na ausência de água livre corrente. O material sólido pode ser usado como apoio (FSS) ou como apoio e fonte de carbono e energia - fermentação em substrato sólido (Roussos *et al.*, 1995).

O termo fermentação semi-sólida, ou em estado sólido, ou fermentação em meio semi-sólido aplica-se aos processos que há crescimento de microrganismos sobre ou dentro de partículas em matriz sólida, onde a quantidade de líquido (água ou outro líquido) apresenta um nível de atividade de água que possa garantir o crescimento e metabolismo dos microrganismos, mas não exceda à máxima capacidade de ligação da água com a matriz sólida (Pinto *et al.*, 2006).

Vários autores apresentam as vantagens e desvantagens da FSS (Soccol, 1994; Kolichski, 1995; Vandenberghe, 2000; Soccol & Vandenberghe, 2003). Podem ser citadas algumas vantagens como: condições da cultura em FSS próximas as que se desenvolvem em meios naturais; simplicidade no preparo do meio de cultura; diminuição de contaminações; redução dos efluentes líquidos a tratar; resíduos sólidos mais estáveis após a fermentação; produção concentrada de metabólitos e eliminação da formação de espuma.

Por outro lado, as limitações da técnica ainda impedem sua ampla utilização industrial: dificuldade de remoção de calor devido à baixa condutividade térmica da matéria, tipos de substratos limitados e a dificuldade de se medir parâmetros como pH, oxigênio dissolvido, quantidade de água e concentração do substrato no estado sólido (Rodrigues, 2006).

2.2.1. Parâmetros do processo

Como em todo processo fermentativo, o controle de determinados parâmetros se faz necessário para a obtenção de produtos com características constantes e uniformes.

Segundo Pandey (2003) os parâmetros do processo podem ser divididos em físico-químicos e bioquímicos como tamanho da partícula, umidade inicial, pH e pré-tratamento do substrato, umidade relativa, temperatura de incubação, agitação e aeração, microrganismo, suplementação de nutrientes como: N, P e traços de elementos, suplementação de fonte de carbono adicional e indutor e extração de produto e sua purificação. Dependendo do tipo, nível e aplicação do processo fermentativo um e/ou vários parâmetros podem ser usados para sua otimização.

2.2.1.1. Substrato

Dependendo do processo que se quer realizar, da facilidade de se obter determinadas matérias-primas ou dos resultados que se deseja conseguir, o substrato pode ser usado tanto na forma natural como na forma sintética. Os materiais utilizados são provenientes de matérias-primas, produtos e/ou resíduos agroindustriais.

Segundo Schimidell *et al.* (2001) o substrato deve possuir características que possibilitem um maior rendimento do processo. A principal peculiaridade é o alto grau de acessibilidade do microrganismo a todo o meio, devendo-se levar em conta a porosidade, o tamanho e o formato das partículas.

Diversas matérias-primas e, dentre estas, principalmente diversos tipos de resíduos agroindustriais, podem ser empregadas na fermentação semi-sólida. A escolha de cada meio, logicamente, irá depender do produto final que

se deseja obter: torta de soja (Capra *et al.*, 2003); resíduo fibroso de soja (Streit *et al.*, 2003a); casca de limão Taiti (Panarotto *et al.*, 2003); bagaço de laranja e farelo de arroz (Hermann *et al.*, 2003); bagaço de maçã (Streit *et al.*, 2003b; Albuquerque *et al.*, 2003); bagaço de pedúnculo de caju (Holanda *et al.*, 1997, Campos, 2003); bagaço de abacaxi (Suhet 1999; Correia, 2004; Oliveira, 2007); borra de café (Rainho *et al.*, 2003); casca de maracujá (Oliveira, 2007), mandacaru (Araújo *et al.*, 2003; Araújo, 2004; Almeida, 2007).

2.2.2.2. Temperatura

Como os demais parâmetros, a temperatura apresenta uma forte influência no crescimento microbiano, havendo uma temperatura ótima 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 o processo (Perazzo Neto, 1999).

Segundo Schmidell *et al.* (2001) e Nagel *et al.* (2001) a grande quantidade de calor produzida durante o processo fermentativo, pode estar associada às atividades metabólicas dos microrganismos.

De acordo com Bellon-Maruel *et al. apud* Rodrigues (2006), uma das grandes limitações de contexto industrial se refere ao controle de temperatura e umidade, fatores críticos no escalonamento do processo. A baixa condutividade térmica do material e seu baixo teor de umidade reduz consideravelmente a transferência de calor, que também é dependente do tamanho das partículas da camada sólida. Normalmente a temperatura é medida na camada sólida e no fluxo de gás de entrada e saída do biorreator.

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

2.2.1.3. pH

As variações no pH são resultados do consumo do substrato (por exemplo, hidrólise protéica) e/ou produção de metabólitos (por exemplo, ácidos orgânicos). Ele é o indicador das mudanças das atividades metabólicas (Maurel *et al.*, 2003). De acordo com Lonsane *et al.* (1985), a variação brusca do potencial hidrogeniônico pode ser amenizada com a utilização de substratos com boa capacidade tamponante ou com a adição de soluções tampão durante a etapa de umidificação do substrato.

A forma de água nos substratos sólidos sempre constituiu um obstáculo para a medida satisfatória de pH. No processo da FSS, não se utiliza um eletrodo para medição do pH, uma vez que pela definição do processo, falta água livre (Dunand *et al.*, 1996). Alguns autores sugerem a suspensão de amostra sólida em água destilada, fato que não pode precisamente identificar o valor real de pH no meio sólido. Na prática, o pH de fermentações sólidas não é controlado, entretanto, o poder tampão dos substratos e a mistura salina inicial permite que durante o crescimento, o pH não sofra bruscas alterações (Rodrigues, 2006; Soccol, 1994; Villegas *et al.*, 1993; Durand & Chéreau, 1988).

Sendo o pH uma variável importante no processo, há valores de pH mínimo, ótimo e máximo para o desenvolvimento de cada microrganismo. Geralmente os fungos preferem pH baixo e as bactérias pH próximos da neutralidade (Perazzo Neto, 1999). 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) estudando o enriquecimento protéico do pedúnculo de caju por *Saccharomyces cerevisiae*, constataram que em pH menor do que 3,5 pode ocorrer redução na eficiência da conversão protéica da levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), embora este índice de acidez evite contaminação do meio por bactérias.

Suhet (1999) cultivando *Aspergillus niger* em resíduo da industrialização do abacaxi utilizando bandejas e frasco de Erlenmyer como biorreatores, verificou que o pH ótimo para esse processo deveria ser menor que 4,5.

2.2.1.4. Aeração

Para um bom rendimento e uma rápida fermentação em substrato sólido, é necessário o uso de uma grande área superficial do meio de cultura, no qual o microrganismo pode se desenvolver em contato com o ar. Na maior parte dos processos, tanto em nível laboratorial como industrial, a oxigenação do meio é realizada pela introdução de ar esterilizado sob pressão no equipamento de fermentação.

Segundo Lonsane *et al.* (1985) a quantidade de ar estéril a ser introduzida no processo fermentativo vai depender da natureza do microrganismo, da necessidade de oxigênio para a síntese dos produtos, da quantidade de calor metabólico a ser dissipada no processo, da espessura da camada de substrato, da quantidade de CO₂ e outros metabólitos voláteis a serem eliminados.

De acordo com Thiemann (1985) a fermentação semi-sólida necessita de quatro a cinco vezes, mais oxigênio que a fermentação submersa.

2.2.1.5. Umidade e atividade de água

Na FSS, a água está envolvida no desenvolvimento de biomassa e reações metabólicas, nas atividades enzimáticas e no transporte de gás, nutrientes e metabólitos extra-celulares (Robinson & Nigam, 2003).

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

A umidade é considerada ótima no substrato saturado, e varia de 30 a 85% dependendo do substrato. As principais causas da variação de umidade são a evaporação devido ao calor metabólico e hidrólise do substrato, e produção de água metabólica (Dorta *et al.*, 1994).

A presença de água no produto pode ser medida de diferentes formas, mas nem todos os métodos indicam a disponibilidade da água para os microrganismos, uma vez que nem toda água está igualmente disponível.

Atividade de água (a_w), quantidade de água não ligada e que está à disposição dos microrganismos, é definida como a razão entre a pressão de equilíbrio de vapor do substrato em relação à água pura, à mesma temperatura. A atividade de água influencia o desenvolvimento microbiano e os processos bioquímicos, tendo por isso, cada microrganismo uma faixa de atividade de água adequada para que possa efetuar suas atividades metabólicas (Ramana *et al.*, 1993). Segundo Robinson & Nigam (2003) as bactérias suportam valores de atividade de água de até 0,75, as leveduras toleram valores de até 0,62 a 0,64 e os fungos filamentados crescem rapidamente em meios relativamente secos, com atividade de água inferior a 0,85 e até 0,61.

Segundo Sato *et al.* (1982), normalmente, em estudos de laboratório, a atividade de água é controlada colocando-se o biorreator em uma câmara de cultura, cuja umidade é fixada através de soluções salinas saturadas. Em maior escala, o biorreator é arejado com ar saturado de água.

O estudo da (a_w) pode ser feito através de isotermas de sorção. A isoterma de sorção é definida como a correlação entre atividade de água e o teor de umidade do material em equilíbrio, a temperatura constante. As isotermas podem ser de adsorção ou dessorção.

Segundo Daguinet (1985) isotermas de dessorção são obtidas quando há um processo de equilíbrio a partir de amostras úmidas que entram em equilíbrio com o ar úmido das vizinhanças, e isotermas de adsorção é o processo de equilíbrio que parte de amostras secas. Dependendo do processo, se é uma adsorção ou dessorção, a umidade relacionada com a atividade de água pode ser diferente. A diferença entre dessorção e adsorção é chamada de histerese.

Várias teorias ou hipóteses têm sido propostas para explicar o fenômeno de histerese, baseados principalmente na estrutura porosa ou capilaridade do adsorvente, que é assumido como sendo papel dominante na histerese, que é a diferença no mecanismo entre os processos de enchimento e esvaziamento dos poros ou capilares com o adsorvido (Braga, 1991).

Vários modelos são sugeridos na literatura para a dependência da umidade de equilíbrio e a atividade de água (VandenBerg & Bruin, 1981). De

acordo com Lahsasni *et al.* (2003) alguns modelos levam em conta o efeito da temperatura, entre eles podem-se citar os modelos de GAB e Henderson. Estes modelos foram adotados como equações pela Sociedade Americana de Engenharia Agrícola por descreverem as isotermas de sorção.

Um outro modelo muito utilizado para ajustar os dados experimentais das isotermas de sorção é o modelo matemático de BET. Através dos parâmetros de sua equação pode ser determinada a fração de umidade da monocamada, que tem uma importância significativa para a estabilidade físico-química de materiais hidratados (Lahsasni *et al.*, 2003).

A equação de GAB (Guggenheim - Anderson - de Boer) de três parâmetros é um reforço das teorias de BET e Langmuir. Este modelo apresenta a vantagem de descrever com grande precisão as isotermas de adsorção e dessorção, para valores de atividade de água menores que 0,90 (Bizot *et al.*, 1987). A Equação de BET (Brunauer - Emmer - Teller) permite examinar o fenômeno de fixação e liberação de moléculas de água. De acordo com Park & Nogueira (1992) este modelo fornece um bom ajuste aos parâmetros, X_m , n e C . A equação de BET é usada com sucesso para atividades de água na faixa de 0 a 0,5. A equação de Henderson é aplicada com sucesso para vários produtos (Kouhila *et al.*, 1999). É influenciada pela temperatura do equilíbrio higroscópico e faz interpolações. O modelo de Henderson é usado porque tem a vantagem de descrever a curva isotérmica inteira, para diferentes temperaturas.

2.2.1.6. Microrganismo

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

Muitos microrganismos são capazes de crescerem em substratos sólidos, mas só os fungos filamentosos podem crescer significativamente na ausência de água livre. Bactérias e leveduras crescem tanto em substrato sólido com um teor de umidade entre 40-70%, como na compostagem ou nas ensilagens aeróbica ou anaeróbica, mas o crescimento e propagação das células ricas em proteínas sempre requerem água livre (Raghavarao *et al.*,

2003). Para um melhor desempenho do processo fermentativo, a escolha da linhagem do microrganismo, deve levar em conta detalhes deste processo, como meio de cultura e condições ambientais da fermentação (temperatura e umidade do sistema).

Como exemplo para a obtenção do enriquecimento protéico, podem ser citados, dentre muitos outros, o uso de microrganismos dos gêneros *Rhizopus* (Suhet, 1999; Moraes, 1999; Albuquerque *et al.*, 2003); *Candida* (Canoilas, 1991); *Aspergillus* (Moraes, 1999; Perazzo Neto, 1999; Almeida, 2007) e *Saccharomyces* (Holanda *et al.*, 1997; Araújo *et al.*, 2003; Campos, 2003, Correia, 2004; Oliveira, 2007).

As leveduras são empregadas, com alta freqüência, na obtenção de produtos de consumo diários, entre eles o pão e as bebidas alcoólicas. Segundo Pelczar *et al.* (1980), os critérios utilizados na descrição e identificação das leveduras são as características morfológicas, culturais, fisiológicas e tipo de reprodução. Caracterizam-se por apresentarem alta resistência em condições ambiente, pH, presença de sais e temperatura de até, aproximadamente 35 °C. Têm alta taxa de reprodução, podendo reproduzir-se sexuadamente, formando esporos, ou por reprodução assexuada, por brotamento, gemulação ou fissão binária (Lodder, 1971).

As características que tornam os microrganismos interessantes, incluindo a levedura como produtores de proteínas, segundo Kilberg (1972) são:

- Rápida multiplicação;
- Capacidade de desenvolvimento em substrato de custo acessível;
- Facilidade de obtenção;
- Utilização de nutrientes em suas formas mais simples;
- Produção independente de fatores ambientais e climáticos;
- Formação de produtos de elevado valor nutritivo.

A composição química e o valor nutritivo da levedura dependem de uma série de fatores, destacando-se natureza do substrato, grau de aeração do meio, espécie de levedura, tratamento da massa fluida e concentração de sais (Kridler *et al.*, 1982). Dentre estes, o substrato utilizado parece ser o mais importante, uma vez que deve apresentar nutrientes requeridos pelas

leveduras em formas assimiláveis e em quantidades suficientes, afetando a taxa de crescimento e a composição, principalmente em proteínas e lipídeos (Hsu, 1961; Vananuvat & Kinssela, 1975).

Butolo (1997) afirma que embora seja considerada como fonte de proteínas, as leveduras podem ser utilizadas como suplemento vitamínico, como fonte de metabólitos não identificados com ação de promotor de crescimento e promotor de reequilíbrio da microflora intestinal.

2.2.1.6.1. Estado da arte sobre enriquecimentos protéicos utilizando microrganismos

Neste item serão apresentados alguns estudos referentes à exploração da fermentação com objetivo de enriquecimento protéico, utilizando fungos.

Holanda *et al.* (1997) avaliaram a proporção de inóculo de *Saccharomyces cerevisiae* e o tempo de fermentação necessário para se enriquecer a pasta de pedúnculos de caju por fermentação submersa em sistema de batelada a temperatura de 35 °C. Os autores referidos conseguiram um aumento de 20% do teor protéico do material fermentado, utilizando 5,0% de concentração de levedura, com um tempo de fermentação inferior a 24 h.

Carvalho (1999) avaliou a influência do cultivo semi-sólido dos fungos *Aspergillus niger* e *Fusarium oxysporum* sobre a composição química da palma forrageira com e sem adição de uréia em cinco tempos de fermentação. Os valores máximos de proteína bruta alcançados na presença de uréia foram de 24,3%, após 20 h de fermentação com o fungo *Fusarium oxysporum* e 34,63% para o *Aspergillus niger*, após 120 h de cultivo. Quanto ao cultivo dos dois fungos sem uréia não foi observado influência significativa quanto ao tempo de fermentação sobre o teor de proteína bruta, sendo os valores médios estimado para ambos de 4,85%, demonstrando segundo o autor uma provável inviabilidade quando se utiliza fungos sem aplicação de uréia, utilizando como substrato a palma forrageira.

Moraes (1999) estudou o enriquecimento protéico do farelo de arroz desengordurado, subproduto da indústria de extração de óleo de arroz, por fermentação semi-sólida na temperatura de 30 °C. As fermentações foram realizadas em biorreatores de coluna com leito fixo, aerados pela parte inferior

e encamisados, por onde ocorria a circulação de água. O autor comparou a taxa de crescimento de cinco diferentes microrganismos, *Aspergillus niger* NRRL 3122, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* CCT 3940, *Aspergillus awamori* CCT 3941 e *Rhizopus sp.*, obtendo um aumento de 20,12% no teor de proteína total utilizando o *Rhizopus sp.*

Visando o enriquecimento protéico da palma forrageira e das vagens de algaroba foi empregado o cultivo semi-sólido do *Aspergillus niger*, avaliando-se a utilização de fonte de nitrogênio e espessura da camada de substrato. Tanto a palma como para a algaroba, a concentração de 0,5% de nitrogênio foi a que apresentou o melhor resultado, atingindo um máximo por volta das 84 e 197 h de cultivo, respectivamente e proporcionado um teor final de proteína verdadeira para ambos de 15%. A camada de substrato com 0,75 cm de espessura foi a que proporcionou maior teor de proteína verdadeira em torno de $12 \pm 3\%$ em ambos os substratos. Os resultados alcançados mostram ser viável, do ponto de vista técnico, o enriquecimento protéico da palma e algaroba com *Aspergillus niger* a ser utilizada como ração animal (Perazzo Neto, 1999).

Suhel (1999) realizou o estudo do enriquecimento protéico do resíduo da industrialização do abacaxi por fermentação semi-sólida a 30 °C. As fermentações foram realizadas em bandeja perfurada, com o fungo *Rhizopus oligosporus* e em sacos plásticos, com os fungos *Rhizopus oligosporus* e *Aspergillus niger*. O tempo em que foram observados os maiores teores de proteína bruta para as fermentações em bandeja com *Rhizopus oligosporus* e em sacos com *Rhizopus oligosporus* e *Aspergillus niger*, foram 65, 96 e 75 horas, respectivamente. Prolongando o tempo do processo, foi observada uma redução do teor protéico.

Albuquerque *et al.* (2003) utilizaram o fungo *Rhizopus oligosporus* para promover o enriquecimento protéico do bagaço de maçã, resíduo da indústria de sucos, empregando a fermentação semi-sólida, que foi realizada em reatores de leito empacotado, durante 72 h, a 30 °C. Os autores conseguiram um aumento de cinco vezes no teor de proteína do bagaço.

Correia (2004) utilizou resíduos de abacaxi como substrato no estudo do enriquecimento protéico por FSS, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e suplementação de nitrogênio (sulfato de amônia e uréia). Após 48

h de fermentação verificou-se um ganho protéico de quase quatro vezes do conteúdo inicial de proteína.

2.2.1.6.2.1. Histórico do estudo da FSS no LEB/UAEQ/UFCG

O Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Unidade Acadêmica de Engenharia Química (UAEQ) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) vem desenvolvendo nos últimos anos pesquisas relacionadas ao enriquecimento protéico de culturas regionais, tais como caju, palma forrageira, mandacaru, abacaxi e maracujá, com o intuito de obtenção de produtos com valor agregado.

Campos (2003) estudou o enriquecimento protéico do bagaço do pedúnculo de caju por fermentação semi-sólida, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. O maior teor de proteína bruta, 20,25%, foi encontrado 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 protéico, utilizando o bagaço de caju como substrato.

Araújo (2004) estudou o processo de enriquecimento protéico das cactáceas, mandacaru e palma forrageira, através da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em fermentação semi-sólida. Neste estudo avaliou-se a influência da concentração de inóculo, espessura da camada de substrato e temperatura de fermentação sobre o teor protéico dos materiais fermentados. Os valores máximos dos teores protéicos, alcançados nas diferentes concentrações do inóculos, temperaturas e espessuras das camadas, foram 28 e 26% de proteína bruta, para mandacaru e palma forrageira, respectivamente. Estes valores foram compatíveis ou maiores do que os concentrados convencionais utilizados como suplemento protéico para a ração animal.

Com o interesse de aproveitar o rejeito sólido (bagaço) da produção de vinho, vinagre e aguardente da fruta da palma forrageira, foi estudado por Amorim *et al.* (2005) o enriquecimento protéico e nutricional desse bagaço com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* através da FSS. Foram realizadas fermentações a temperatura constante em biorreatores bandeja com a adição de 15% de concentração de leveduras ao substrato. Nestas condições o

bagaço apresentou um aumento protéico de 1,46 vezes em relação ao teor de proteína contido no bagaço *in natura*.

Almeida (2007) realizou estudos sobre o enriquecimento protéico do mandacaru com a utilização do *Aspergillus niger* e da *Saccharomyces cerevisiae* por fermentação semi-sólida. O maior aumento protéico encontrado utilizando o *Aspergillus niger* foi após 72 h de fermentação em bandeja a uma temperatura de 30 °C. Nessas condições o teor protéico encontrado foi de 76,9%. Para as fermentações realizadas em tambor rotativo com a *Saccharomyces cerevisiae* o teor de proteína bruta máximo alcançado foi de 23% após 10 h 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 FSS com a *Saccharomyces cerevisiae*. As fermentações foram realizadas em bandejas durante um período de 48 h. O aumento protéico 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 para os animais, na época de escassez de alimento no semi-árido.

2.2.3 Biorreator

Biorreator é o local onde a matéria-prima, sob condições satisfatórias, é convertida a um produto desejado. Maximizar a taxa de formação e o rendimento dos produtos dentro do biorreator é uma das metas mais importantes no aperfeiçoamento do processo da FSS. Em contraste com os sistemas de FSm, os biorreatores da FSS, não alcançaram ainda um alto grau de desenvolvimento, devido aos problemas associados ao meio sólido, como baixa transferência de energia e difícil manuseio do material (Robinson & Nigam, 2003).

O processo de FSS envolve preparação do substrato, esterilização inicial do substrato e da biomassa depois da recuperação do produto, preparação do inóculo, carga e descarga do equipamento, como também recuperação do

produto. Um biorreator deve ser projetado de maneira a facilitar todas essas operações e apresentar as seguintes características:

- Retenção do substrato. O material de construção do biorreator de sistema de FSS deve ser firme, resistente à corrosão e atóxico ao organismo usado no processo. Também deve ter um custo relativamente baixo;
- Prevenção de contaminantes na entrada no processo, como também controle da liberação do organismo usado no processo ao ambiente. O segundo item é importante considerando-se que a maioria dos processos de FSS envolve esporos de fungos, que podem ser patogênicos e causar danos ao meio ambiente. Isto pode ser alcançado pela incorporação de filtros no fluxo de saída de ar e por um cuidadoso lacre e filtração do fluxo de ar na entrada, porém estes cuidados aumentam os custos do equipamento;
- Efetiva regulação da aeração, mistura e remoção de calor para o controle dos parâmetros operacionais de temperatura, atividade de água e concentração de oxigênio. Frequentemente, os processos de FSS sofrem problemas de remoção de calor ou perdas de água do substrato por evaporação, o que afeta o rendimento e a qualidade do produto desejado;
- Manutenção e uniformidade dentro do substrato. Isto pode ser alcançado através de uma mistura efetiva que também é importante para minimizar os gradientes térmicos, que é um fator importante na FSS.

Vários tipos de biorreatores têm sido utilizados para FSS em modelo contínuo ou em batelada. Uma característica comum em quase todos esses modelos tem sido sua simplicidade no funcionamento.

- Biorreatores de vidro - Erlenmeyers, frasco de Fernbach e garrafas de culturas são bastante utilizados devido à facilidade de manuseio durante as pesquisas. No entanto embora sejam excelentes para o início de uma pesquisa, deixam a desejar quando se quer a ampliação de escala do processo.
- Bandejas - elas podem possuir seu fundo intacto, o que significaria uma atuação muito parecida com a dos Erlenmeyers, porém com uma área superficial de troca e uma capacidade de alocar meio de cultura muito maior. Podem também ter seu fundo substituído por uma tela perfurada, o que lhes confere uma maior eficiência na circulação de ar por todo o meio, e não somente na parte superior exposta ao ambiente.

- Tanques circulares - Toyama (1976) indica um equipamento denominado produtor de “Koji” automático estacionário, que consiste de dois tanques rotatórios de 7 m de diâmetro, dotados de um agitador helicoidal, dentro de uma câmara de condições controladas. Podem ser processados, a cada batelada, cerca de 2 a 3 toneladas de meio de cultura, com alimentação, esterilização, inoculação e retirada do produto, realizados automaticamente.
- Esteira rolante - as etapas de inoculação e incubação do material esterilizado são realizadas em longas esteiras de fundo perfurado por onde circula ar úmido. E segundo Thiemann (1985), dependendo das necessidades do produto, pode ser realizada uma agitação ocasional.
- Tubular horizontal - neste processo, também denominado tambor rotativo, o substrato é esterilizado e resfriado diretamente no tambor. A aeração da massa é realizada pela passagem de ar esterilizado e umidificado através do reator, objetivando também o controle da temperatura interna. Segundo Thiemann (1985), esse equipamento apresenta um custo relativamente elevado para o volume de material produzido, dificuldades na manutenção da integridade do micélio devido à agitação do sistema, além das dificuldades de ampliação de escala do processo.
- Tubular vertical - também denominado de fermentador tipo coluna, tem sido o reator utilizado em pesquisas quando se deseja obter o controle do processo. Thiemann (1985) explica que esse tipo de reator apresenta como vantagens, um espaço reduzido, a rapidez de carga e descarga e uma relação volume total/volume útil próximo a 1. Como desvantagens, a compactação da massa, a dificuldade de dissipação de calor e um grau de umidade da massa não uniforme ao longo do equipamento.
- Saco plástico - Suhet (1999) utilizou sacos plásticos para a realização do enriquecimento protéico do resíduo da industrialização do abacaxi, por FSS. O referido autor destaca que é necessário perfurar os sacos após certo período, para permitir a aeração do meio.

2.2.3.1. Estado da arte de ampliação de escala de biorreatores para FSS

Os métodos de ampliação de escala utilizados para as fermentações submersas não podem ser aplicados diretamente aos biorreatores utilizados

em fermentação semi-sólida, devido às diferenças existentes na estrutura física do sistema e remoção do calor que devem ser consideradas ao projetar-se um biorreator para FSS (Mitchell *et al.*, 2000). Segundo Pandey (2003) e Mitchell *et al.* (2000) os avanços alcançados recentemente para o desenvolvimento de biorreatores em *scale up* aplicados a FSS devem-se à aplicação de técnicas de modelagens matemáticas para descrever fenômenos biológicos e de transferência de calor e massa que acontecem durante os processos. Segundo Mitchell *et al.* (2000), recentemente foram desenvolvidos modelos que descrevem o processo de transferência de calor e massa em biorreatores bandeja, biorreatores rotativos e biorreatores de coluna de leito fixo. Para Mitchell *et al.* (1999), estes biorreatores podem ser usados para processos em *scale up*, embora nenhum trabalho tenha sido feito para confirmar isto.

A utilização de biorreatores tipo bandeja tende a ser simples, uma vez que o substrato sólido pode ser misturado manualmente, não havendo necessidade de aeração forçada. No entanto, tal reator restringe a quantidade de substrato a ser fermentado, podendo ser utilizado apenas finas camadas, evitando-se dessa forma o aquecimento e mantendo as condições aeróbias do sistema (Robinson & Nigam, 2003). Estudos em biorreatores bandejas continuam sendo largamente realizados, sendo alterado apenas, aos longos dos anos, o tipo de material utilizado na construção das bandejas. A substituição foi feita por materiais como o plástico e o alumínio. A vantagem das bandejas de plásticos ou de alumínio está relacionada à maior facilidade de limpeza em relação às de madeiras, que eram anteriormente utilizadas, reduzindo então a possibilidade de contaminação e desperdícios de substrato (Robinson & Nigam, 2003; Pandey *et al.*, 2001). O uso de biorreatores bandejas em ampla produção é limitado já que iria requerer grande área operacional, além de necessitar de uma mistura mecânica do substrato. Diante do exposto, os autores afirmam que o biorreator tipo bandeja não é uma alternativa viável para as fermentações semi-sólidas realizadas em grande escala.

Um fermentador horizontal, cilíndrico de aço, com capacidade de 70 m³ foi projetado para o cultivo semi-sólido do *Bacillus thuringiensis* (Bt) CM-I. Esse projeto foi baseado em estudos preliminares com um fermentador em escala piloto. Pulsação da pressão e aumento da circulação do ar interno do biorreator

foram duas mudanças feitas, com o objetivo de melhorar a transferência de calor e massa, como também aumentar a porosidade dentro do substrato (Hongzhang *et al.*, 2002).

Oostra *et al.* (2000) avaliaram o uso de biorreatores com e sem agitação para a aplicação em larga escala da produção do fungo *Coniothyrium minutans* em fermentação semi-sólida. O maior problema encontrado, por esses autores na ampliação de escala foi o acúmulo de calor no substrato. Os autores optaram por fazer primeiramente uma simulação matemática, para se economizar tempo e gastos desnecessários. Os resultados encontrados indicaram que a ampliação de escala da fermentação semi-sólida para a produção de esporos deve ser preferencialmente conduzida usando-se um biorreator com agitação, pois proporciona um melhor resfriamento do substrato usado, grãos de aveia.

CAPÍTULO 3

MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

Neste capítulo estão descritos os materiais selecionados e as metodologias que foram utilizadas no estudo do enriquecimento nutricional da palma forrageira.

Inicialmente foram realizados testes preliminares no Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) do Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Federal de Campina Grande (CCT/UFCG), com o intuito de selecionar, avaliar e confirmar os parâmetros do processo que influenciaram na fermentação semi-sólida da palma forrageira, utilizando a *Saccharomyces cerevisiae*. As etapas dos experimentos realizados no processo de enriquecimento nutricional da palma forrageira são mostradas na Figura 3.1.

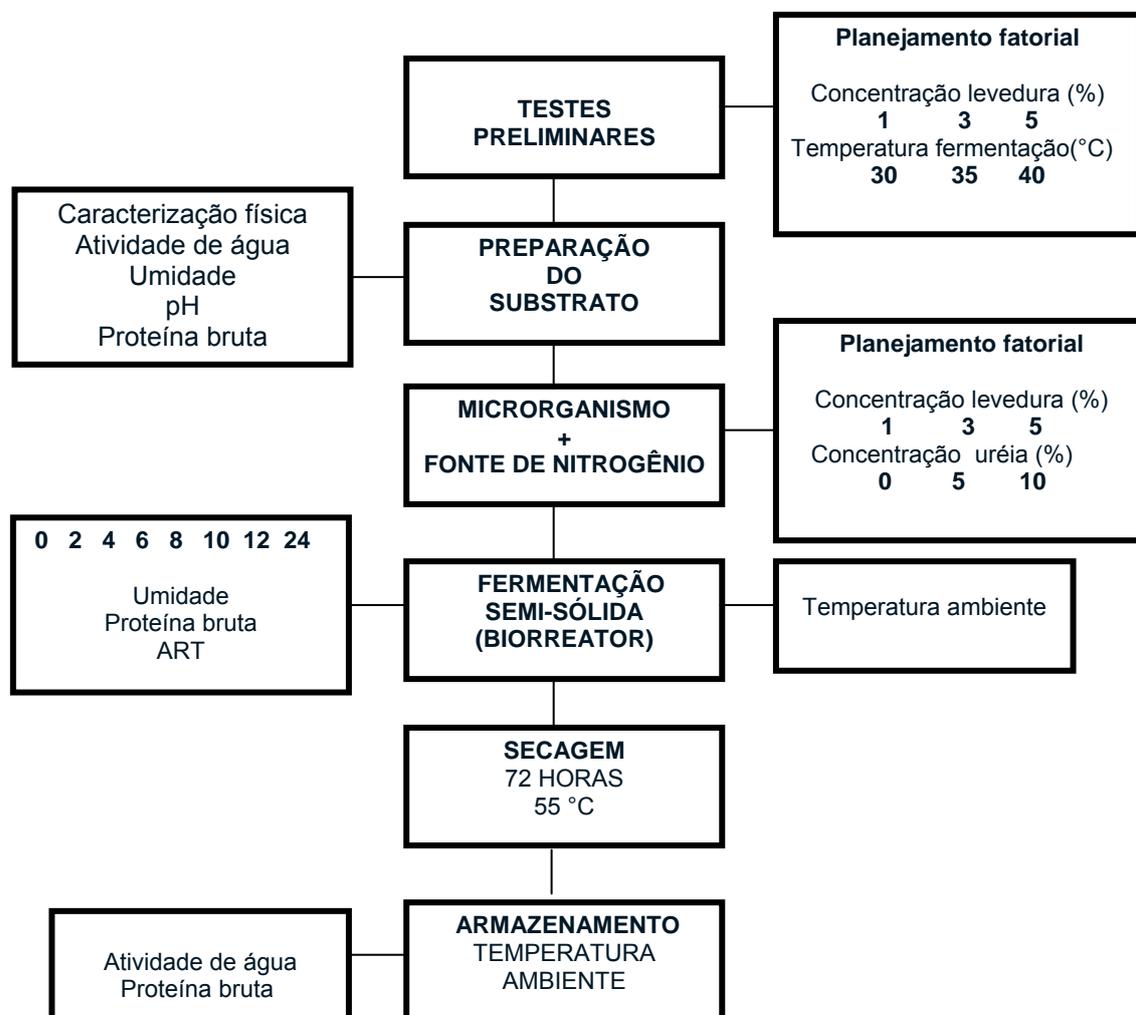


Figura 3.1. Etapas do processo de enriquecimento nutricional da palma forrageira.

3.1. Substrato

A matéria-prima utilizada como substrato para o processo de enriquecimento nutricional foi a palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) da variedade gigante. Os cladódios de palma foram provenientes da propriedade Olho D'água, no município de Seridó, localizado a 240 Km de João Pessoa. A Figura 3.2 mostra o local de coleta da palma forrageira utilizada neste trabalho.



Figura 3.2. Local de coleta da palma forrageira.

Os cladódios foram coletados com cortes efetuados nas articulações, utilizando aqueles que não apresentaram pragas ou doenças, a partir dos terciários, conforme colheita feita tradicionalmente na região. Em seguida esse material foi conduzido para o LEB, onde inicialmente foi cortado em pequenos pedaços (Figura 3.3) e, em seguida, triturado em liquidificador industrial, resultando numa mucilagem de consistência pastosa, substrato (Figura 3.4).



Figura 3.3. Palma forrageira cortada em pedaços.



Figura 3.4. Mucilagem da palma forrageira.

Como as coletas dos cladódios da palma foram realizadas em diferentes épocas, cada lote utilizado foi previamente caracterizado físico e físico-quimicamente, sendo estes valores referenciados em cada experimento realizado.

3.2. Microrganismo

O microrganismo utilizado para o enriquecimento nutricional da palma

frrageira foi a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, prensada, fermento biológico comercial da marca Fleischmann, com umidade de 70%, expresso em base úmida e, proteína bruta média de 45%, expresso em base seca.

3.3. Fonte de nitrogênio

A fonte suplementar de nitrogênio utilizada neste trabalho para o enriquecimento nutricional da palma frrageira foi a uréia pecuária, com proteína bruta média de 28%, expresso em base seca, destinada a suplementação protéica dos animais ruminantes.

Na tentativa de potencializar a produção de proteínas, ou seja, elevar o aumento protéico alcançado nos testes preliminares decidiu-se pela adição de uma fonte suplementar de nitrogênio. A uréia era adicionada ao substrato juntamente com a levedura, no início da fermentação.

3.4. Fermentação

A fermentação empregada para o enriquecimento nutricional da palma frrageira foi do tipo semi-sólida em sistema de batelada, na qual o substrato foi adicionado ao biorreator, ocorrendo então à adição da levedura. A adição da levedura ao substrato foi realizada com o auxílio de uma peneira, para uma melhor distribuição da mesma, evitando pontos de concentração.

Durante a realização dos experimentos preliminares estudou-se a influência da temperatura de fermentação sobre o processo. Para o controle da temperatura, as fermentações eram realizadas em estufa de circulação de ar forçado. Nesse estudo também se observou o comportamento do pH e da umidade do substrato ao longo de 72 h de fermentação. Após a realização dos testes preliminares optou-se por uma fermentação a temperatura ambiente, durante um período de 24 h. A temperatura de fermentação foi um dos parâmetros do processo estudados que não influenciou no aumento protéico da palma frrageira. Durante o período de 24 h foram realizadas análises de proteína bruta e açúcares redutores totais, em tempos determinados (0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h). Essas análises eram feitas em amostras secas por 72 h a 55

°C. A temperatura de 55 °C foi escolhida para evitar perdas por volatilização ou a alteração de outros nutrientes, principalmente compostos nitrogenados, conforme Araújo (2004). O tempo 0 (zero) referenciado acima refere-se ao início do processo fermentativo, ou seja mistura do substrato, levedura e fonte de nitrogênio.

3.5. Biorreator

A escolha do biorreator e suas dimensões utilizadas neste trabalho foram definidas levando-se em conta que o objetivo do processo foi o enriquecimento nutricional, ou seja, o desenvolvimento de microrganismos, em escala ampliada.

O biorreator bandeja é um dos tipos indicados para esse propósito, pois oferece uma ampla área superficial entre o substrato e o meio, condição necessária ao bom desenvolvimento dos microrganismos além de fácil operação. O biorreator tambor rotativo também é indicado para processos em *scale up*, proporcionando uma boa aeração e homogeneização do substrato.

3.5.1. Bandeja

5 Kg de substrato foram colocados em bandejas retangulares de plástico com dimensões 57 x 35 x 8,5 cm, volume de 17 L (Figura 3.5). Os biorreatores bandejas foram dispostos em bancada por um período de 24 h, a temperatura ambiente (25 ± 3 °C). A cada retirada de amostra o substrato era homogeneizado, com o auxílio de uma colher de pau, para que as amostras representassem, de melhor maneira possível, todo o meio. A fermentação desenvolvida neste biorreator foi considerada como um processo estático.



Figura 3.5. Biorreator bandeja.

3.5.2. Tambor rotativo

No enriquecimento nutricional da palma forrageira, com a *Saccharomyces cerevisiae* em escala de bancada realizado por Araújo (2004) foi sugerido, como perspectiva de estudo, a agitação do meio fermentativo, argumentando-se que a mesma deveria influenciar no aumento protéico final alcançado. Com base nestas afirmações foram realizadas pesquisas bibliográficas com a finalidade de projetar um biorreator que permitisse a agitação do substrato e que melhor se adaptasse as condições desse estudo.

Analisando-se as Figuras 3.6 e 3.7 observa-se o projeto do biorreator utilizado neste estudo (vista horizontal e frontal). A Figura 3.8 apresenta o biorreator tambor rotativo, depois de construído.

O biorreator tambor rotativo utilizado para estudo do enriquecimento nutricional da palma forrageira foi projetado de maneira a ser possível a utilização de no máximo 10 Kg de substrato por batelada. O tambor plástico utilizado possui uma capacidade de 25 L, no entanto, deve-se ressaltar que foi necessário ter-se uma margem de segurança quanto ao volume útil do mesmo, pois a adição da levedura provoca o “inchaço” do substrato devido à formação de CO_2 e H_2O , durante as primeiras horas de fermentação, não podendo desta forma, ser utilizado toda a capacidade do biorreator, caso contrário seria perdido massa de substrato já no início da fermentação, influenciando no

resultado final do processo. O tambor rotativo possuía agitação constante de aproximadamente 20 rpm.

O tambor possuía uma inclinação de aproximadamente 45°. Esta inclinação deveu-se a retirada da tampa do tambor para uma melhor aeração da massa fermentada. Buscou-se uma inclinação mínima possível para que não ocorresse o derramamento do substrato e, que a espessura da camada de substrato fosse a menor possível. Uma grande espessura de substrato poderia ocasionar gradientes de temperatura e de aeração dentro do fermentador, comprometendo os resultados. O ângulo de inclinação do tambor rotativo foi igual para todos os experimentos realizados.

No decorrer dos experimentos, observou-se a aglomeração do meio fermentativo, ao utilizar apenas o tambor plástico, o que poderia causar problemas relacionados com a transferência de oxigênio. Por esse motivo foram fixadas chicanas feitas de chapas de aço inoxidável dentro do tambor para promover a homogeneização, ajudando na aeração do substrato.

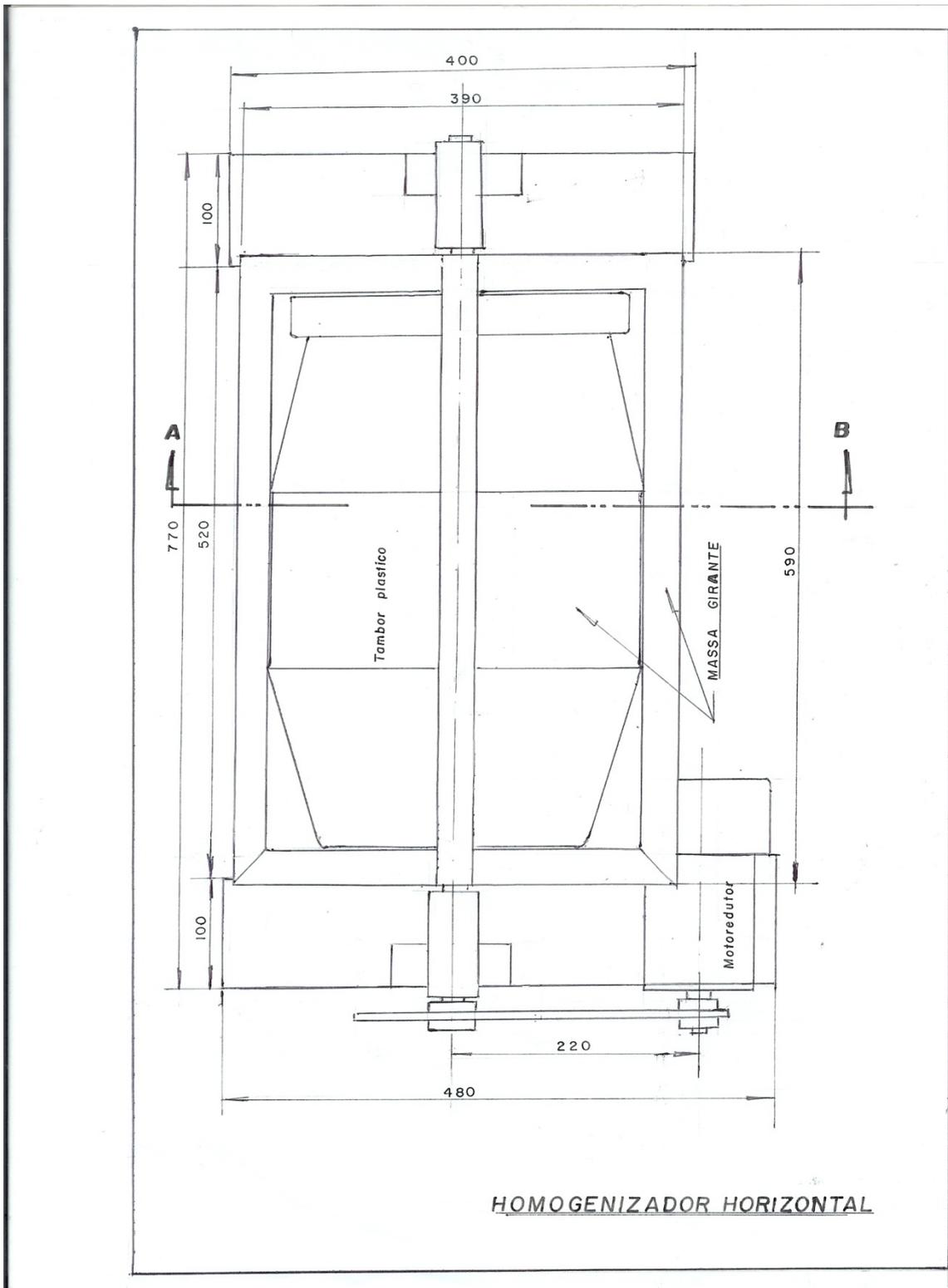


Figura 3.6. Projeto do biorreator tambor rotativo, vista horizontal.

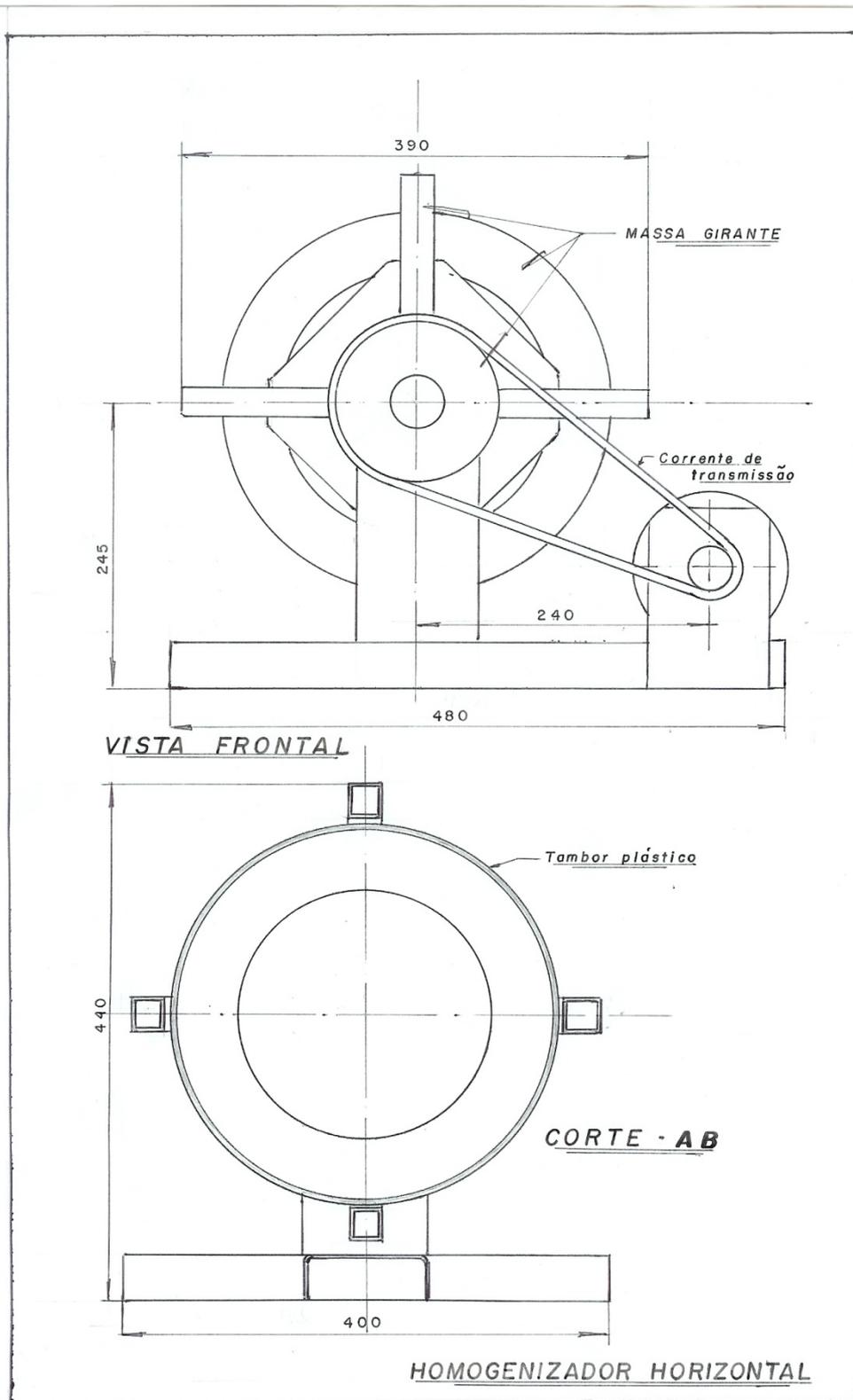


Figura 3.7. Projeto do biorreator tambor rotativo, vista frontal.



Figura 3.8. Biorreator tambor rotativo.

3.6. Caracterização física e físico-química

Antes de iniciar o processo do enriquecimento nutricional da palma forrageira, foi realizada a caracterização física e físico-química dos cladódios da palma forrageira, nas diferentes épocas de coleta. Antes e após o enriquecimento eram realizadas análises de umidade, atividade de água, proteína bruta, pH e açúcares redutores total.

3.6.1. Análises físicas

Para cada lote, 30 cladódios eram retirados ao acaso, de maneira que estes representassem todo o lote.

As dimensões analisadas nos cladódios da palma forrageira foram: espessura, comprimento e larguras. As espessuras dos cladódios, expressas em centímetros, foram obtidas utilizando-se paquímetro digital. A medição, também expressa em centímetros, do comprimento, largura superior, central e inferior dos cladódios foi realizada com uma régua de 50 cm (1/100).

As massas dos cladódios, expressas em gramas, foram determinadas utilizando-se balança analítica digital, com precisão de duas casas decimais.

3.6.2. Análises físico-químicas

- Umidade e atividade de água (a_w)

Para a determinação do teor de umidade as amostras foram levadas à estufa a 105 °C, durante 24 h (Silva, 1998). As umidades, expressas em base seca, foram calculadas a partir da Equação 3.1.

$$X_{eq} = \frac{m_i - m_f}{m_f} \quad (1)$$

Sendo:

X_{eq} - umidade de equilíbrio, b.s

m_i - massa inicial da amostra, g

m_f - massa da amostra seca, g

Para o levantamento dos dados das isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira foi utilizado o equipamento Termoconstanter Novasina TH200.

Os cladódios foram triturados e secos a temperatura de 55 °C, por três dias. Foram adicionadas individualmente diferentes quantidades de água destilada à 10 g de amostra seca, compreendidas entre 0,5-5,0 mL, de maneira a se obter uma faixa de umidade adequada para esse estudo. Após 12 h foi determinado o valor da atividade de água das amostras.

Amostras de aproximadamente 2,0 g, em duplicata, do material umedecido foram colocadas em células plásticas que acompanha o equipamento e, após serem pesadas, foram levadas ao equipamento para determinação da atividade de água (a_w), nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C. A amostra permanecia no equipamento até que a leitura da atividade de água se estabilizasse. Esse processo repetiu-se com as diferentes amostras. Cada leitura obtida para cada temperatura correspondia a um ponto da curva da isoterma de adsorção de umidade. No final, cada amostra foi levada à estufa a

105 °C, durante 24 h (Silva, 1998), para determinação da umidade conforme Equação 3.1.

Na palma forrageira enriquecida nutricionalmente também se estudou as isotermas de adsorção de umidade, seguindo o mesmo procedimento descrito acima.

Vários modelos matemáticos propostos na literatura foram testados para correlacionar a umidade de equilíbrio e a atividade de água, três modelos foram selecionados para ajustar os dados experimentais das curvas de adsorção da palma forrageira enriquecida proteicamente. Foram testados os modelos matemáticos de GAB, BET e Henderson (Equações 2, 3 e 4, respectivamente). Os parâmetros dos modelos matemáticos estudados foram calculados por meio de regressão não-linear dos dados experimentais, utilizando-se o programa computacional Statistica 5.0. Os métodos de estimativa utilizados foram o Quasi-Newton e Simplex. A escolha do método de estimativa a ser usado levou em consideração a coerência dos valores dos parâmetros dos modelos.

$$X_{eq} = \frac{x_m \cdot C \cdot K \cdot a_w}{(1 - K \cdot a_w)(1 - K \cdot a_w + C \cdot K \cdot a_w)} \quad (2)$$

$$X_{eq} = \frac{x_m \cdot C \cdot a_w}{1 - a_w} \left[\frac{1 - (n + 1) \cdot (a_w)^n + n \cdot (a_w)^{n+1}}{1 - (1 - C) \cdot a_w - C \cdot (a_w)^{n+1}} \right] \quad (3)$$

$$X_{eq} = \left[\frac{-\ln(1 - a_w)}{b} \right]^{1/a} \quad (4)$$

em que: a_w - atividade de água, decimal

X_{eq} - conteúdo de umidade de equilíbrio, expresso em base seca

X_m - conteúdo de umidade na monocamada molecular

C - constante de BET relacionada ao calor de sorção da camada molecular

K, a, b - parâmetro de ajuste
n - número de camadas moleculares

O grau de ajuste dos modelos matemáticos aos dados experimentais foi avaliado através do coeficiente de determinação (R^2), do desvio médio relativo (P) e do comportamento da distribuição dos valores residuais. O desvio médio relativo é definido, conforme Equação 5.

$$P(\%) = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|V_{\text{exp}} - V_p|}{V_{\text{exp}}} \quad (5)$$

em que : P - desvio médio relativo

V_{exp} - valor obtido experimentalmente

V_p - valor predito pelo modelo

n - número de dados experimentais

O calor isostérico de adsorção Q_{st} (kJ/kg H₂O) foi determinado pela equação de Clausius-Clapeyron, Equação 6 (Labuza, 1968; Kechaou & Maalej, 1999):

$$\Delta Q_{st} = -R \left(\frac{\partial(\ln a_w)}{\partial(1/T)} \right) \quad (6)$$

em que: R - constante universal dos gases (0,4618 kJ (kg K)⁻¹)

a_w - atividade de água

T - temperatura absoluta, em K

Para prever o comportamento do calor de adsorção em função da umidade de equilíbrio foi utilizado o modelo empírico de três parâmetros, sugerido por Pezantes *et al.* (2006) e apresentado na Equação 7.

$$Q_{st} = A + B^{(-X_{eq}/C)} \quad (7)$$

em que: A, B e C - parâmetros do modelo

X_{eq} - conteúdo de umidade de equilíbrio

- *Cinzas (CZ) e matéria orgânica (MO)*

As análises do percentual de cinzas e de matéria orgânica da palma foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campus II, Areia, PB. Utilizou-se a metodologia descrita por Silva (1998).

- *pH*

Para a determinação do pH foram utilizados 10 g de amostra (em triplicata) que foram transferidos para um Erlenmeyer, com auxílio de 100 mL de água à 25 °C, recentemente fervida. O pH foi determinado através de medidas potenciométricas do líquido sobrenadante AOAC (1990).

- *Proteína bruta (PB)*

O teor de proteína bruta foi determinado pelo método semi-micro Kjeldahl com adaptação para nitrogênio, por espectrofotometria UV-VIS, segundo o método descrito por Le Poidevin & Robinson (1964). O teor de proteína foi obtido em função do nitrogênio, multiplicando o mesmo por um fator de 6,25.

- *Açúcares redutores totais (ART)*

O percentual de açúcares redutores totais foi determinado pelo método DNS, conforme descrito por Correia (2004).

- *Energia bruta (EB)*

As análises de energia bruta da palma foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade

Federal da Paraíba (UFPB), Campus II, Areia, PB. Utilizou-se a metodologia proposta pela AOAC (1990).

- *Fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg)*

As análises dos percentuais de P, K, Ca e Mg da palma foram realizadas no laboratório do Departamento de Solos e Engenharia Rural (DSER) do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campus II, Areia, PB. A metodologia utilizada foi descrita por Silva (1998).

3.7. Aumento protéico

Para verificar-se qual o incremento de proteína bruta na palma enriquecida, calculou-se o aumento protéico (AP) de cada amostra retirada durante as fermentações. As determinações do aumento protéico das amostras tiveram como base o valor protéico contido na massa seca da palma *in natura*. O aumento protéico foi definido como a razão entre o valor protéico da palma enriquecida (%) e o valor inicial de proteína bruta na forma *in natura*, conforme Equação 3.5.

$$AP = \frac{(\%) \text{ Proteína Bruta}_{(\text{enriquecido})}}{(\%) \text{ Proteína Bruta}_{(\text{in natura})}} \quad (8)$$

3.8. Planejamento fatorial

Para avaliar as variáveis mais importantes do processo fermentativo semi-sólido, foi empregado um planejamento fatorial completo 2^k (sendo k o número de variáveis independentes), com o objetivo de fazer um estudo mais abrangente da influência dessas variáveis sobre o sistema, de maneira organizada e em quantidade mínima de experimentos. Inicialmente foram especificados os níveis para cada variável, isto é os valores dos fatores que foram empregados e com isso foram realizados os experimentos, registrando-

se as respostas observadas em todas as possíveis combinações na matriz de planejamento (Barros Neto *et al.*, 1995).

Como a finalidade de avaliar quantitativamente a influência das variáveis independentes, temperatura de fermentação e concentração inicial de leveduras, sobre o teor de proteína bruta e aumento protéico, foram realizados testes preliminares associados a um planejamento fatorial 2^2 + três experimentos no ponto central. A matriz do planejamento fatorial 2^2 encontra-se, na Tabela 3.1 e a Tabela 3.2 mostra as variáveis utilizadas no planejamento fatorial, suas codificações e os níveis para cada variável. Os dados experimentais para cada resposta, referentes aos diferentes tempos de coleta de amostras, foram submetidos a uma análise de regressão linear, utilizando o programa Statistica, 5.0, para se obter os coeficientes dos modelos.

Os valores adotados para as variáveis em cada nível foram baseados nos valores estudados por Araújo (2004) que estudou a influência da temperatura de fermentação (30, 35 e 40 °C) e da concentração inicial de leveduras (5, 10 e 15%) sobre o teor protéico. Os valores da concentração de leveduras adotados nos testes preliminares foram reduzidos, conforme Tabela 3.2. Esta redução deve-se a maior viabilização da realização dos experimentos em campo, o que poderá diminuir acentuadamente os custos de produção.

Tabela 3.1. Matriz do planejamento fatorial 2^2

Experimentos	Variável (1)	Variável (2)
1	+1	-1
2	+1	+1
3	-1	+1
4	-1	-1
5	0	0
6	0	0
7	0	0

Tabela 3.2. Valores reais e codificados das variáveis do planejamento fatorial 2^2 , utilizadas nos testes preliminares

Variável	Nível -1	Nível 0	Nível +1
(1) - Temperatura de fermentação (°C)	30	35	40
(2) - Concentração inicial de leveduras (%)	1	3	5

Baseando-se nos testes preliminares decidiu-se estudar a influência das variáveis independentes (concentração de leveduras e concentração de fonte de nitrogênio), bem como suas interações sobre as respostas (proteína bruta e aumento protéico), utilizando os biorreatores bandeja e tambor rotativo, separadamente. Sendo dessa forma realizado um planejamento fatorial $2^2 + 2$ experimentos no ponto central. A Tabela 3.3 mostra as variáveis utilizadas no planejamento fatorial, suas codificações e os níveis para cada variável.

Tabela 3.3. Valores reais e codificados das variáveis independentes do planejamento fatorial 2^2

Variável	Nível -1	Nível 0	Nível +1
(1) - Concentração inicial de leveduras (%)	1	3	5
(2) - Concentração de fonte de nitrogênio (%)	0	5	10

3.9. Tempo de armazenamento do produto final

Após a fermentação, uma amostra do material fermentado e seco a 55 °C por 72 h foi retirada e em seguida acondicionada em sacos de papel, à temperatura ambiente. Com a finalidade de estudar a viabilidade do armazenamento da palma enriquecida foram feitas análises de proteína bruta desse material, a cada três meses de armazenamento, durante um período de 9 meses, para avaliar uma possível mudança no teor protéico do material com

o tempo de armazenamento. Vale ressaltar que o material fermentado estudado refere-se ao experimento que obteve o maior resultado de aumento protéico durante as fermentações realizadas nos testes preliminares, ou seja, sem utilização de uréia.

Também visando o armazenamento do material enriquecido foram estudadas isotermas de adsorção de umidade, em diferentes temperaturas (30, 35 e 40 °C). Estas temperaturas aproximam-se da temperatura média anual encontrada para a região semi-árida do Nordeste brasileiro. Também estudou-se o calor isostérico de adsorção visando informações sobre a secagem e o armazenamento da palma forrageira enriquecida nutricionalmente.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente capítulo tem como objetivo apresentar e discutir os resultados do estudo da caracterização física e físico-química dos cladódios da palma forrageira, em diferentes épocas do ano. Expor e discutir os resultados das isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura* e enriquecida nutricionalmente, nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C. Definir o modelo matemático que melhor ajusta-se aos dados experimentais, obtendo-se assim a atividade de água desejável para o estudo do processo de enriquecimento protéico e determinar o calor isostérico de adsorção da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, buscando-se parâmetros para o estudo do armazenamento deste material. Expõe-se também os resultados do planejamento fatorial utilizado no estudo do enriquecimento nutricional da palma forrageira com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* em diferentes tipos de biorreatores (bandeja e tambor rotativo).

4.1. Caracterização dos cladódios da palma forrageira

A caracterização física e físico-química dos cladódios *in natura* da palma forrageira é de fundamental importância, pois os resultados dessas análises serviram de referência na avaliação do enriquecimento nutricional.

4.1.1. Caracterização física

Os valores médios das análises físicas dos cladódios da palma forrageira *in natura*, utilizados como substrato no estudo do enriquecimento nutricional, estão apresentados na Tabela 4.1.

Os cladódios estudados apresentaram um formato elíptico, concordando com a descrição feita por Mendes (1986); Data América (2004) e Inglese & Barrios (2001). O valor médio do comprimento dos cladódios apresentado neste trabalho está de acordo com os relatados por Data América (2004), Inglese & Barrios (2001) e Melo (2005), que encontraram valores de 30 a 50 cm.

Tabela 4.1. Caracterização física dos cladódios da palma forrageira

	Valores médios *					
	Dez. 2005	Dez. 2006	Jan. 2007	Abr. 2007	Mai 2007	Jul. 2007
Comprimento	34,45	36,23	35,94	30,50	33,20	36,39
(cm)	± 3,80	± 5,68	± 3,86	± 2,91	± 3,49	± 2,48
Massa (kg)	0,73	0,73	1,03	0,73	0,67	0,89
	± 0,19	± 0,26	± 0,51	± 0,40	± 0,29	± 0,3
Espessura (cm)	1,17	1,70	2,37	1,18	1,59	1,8
	± 0,34	± 0,33	± 0,71	± 0,56	± 0,12	± 0,18
Largura superior	20,18	17,22	17,26	13,97	18,2	18,25
(cm)	± 0,15	± 1,80	± 1,56	± 1,63	± 209	± 1,83
Largura central	18,32	19,04	18,79	15,85	20,70	20,00
(cm)	± 2,23	± 2,03	± 1,87	± 1,46	± 2,64	± 2,17
Largura Inferior	16,52	14,59	14,88	11,35	16,25	15,39
(cm)	± 0,16	± 2,06	± 5,11	± 1,89	± 2,86	± 2,11

* média de 30 amostras

Segundo Data América (2004) os cladódios da palma forrageira pesam em média 1 Kg e apresentam em geral largura entre 18 e 25 cm, esses valores estão bem próximos aos apresentados na Tabela 4.1, onde a massa média dos cladódios variou de 0,67 a 1,03 Kg e largura de 15,85 a 20,7 cm. Não foi encontrado na literatura pesquisada distinção entre as larguras superior, central e inferior dos cladódios da palma forrageira, sendo referido apenas largura média. Neste estudo optou-se por diferenciar as larguras dos cladódios uma vez que os mesmos são elípticos e apresentam grandes diferenças de largura. A comparação acima foi realizada tomando como base a largura central dos cladódios.

A largura superior apresentada pelos cladódios é quase sempre maior que a largura inferior e menor que a largura central, isto se dá devido ao formato elíptico característico da palma forrageira gigante.

De acordo com Inglese & Barrios (2001) os cladódios maduros têm geralmente uma espessura de 1 a 5 cm. O valor encontrado neste estudo está próximo ao valor mínimo apresentado por esses autores, quando pesquisaram a anatomia e morfologia da palma forrageira.

Apesar da similaridade dos dados deve-se ressaltar que nenhum dos autores citados acima especifica a época do ano, nem a idade dos cladódios analisados, fatores que segundo Santos (1989) e Data América (2004) estão diretamente relacionados ao crescimento da planta.

4.1.2. Caracterização química

A caracterização química dos cladódios, da palma forrageira *in natura*, que foram utilizados como substrato no estudo do enriquecimento nutricional é apresentada na Tabela 4.2.

A composição química da palma varia entre as diversas variedades, e mesmo entre amostras de uma mesma variedade, em função, entre outras coisas, 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; Data América, 2004).

O percentual de umidade (b.u.) apresentado pelos cladódios estudados está entre os valores observados por Araújo (2004), Cavalcante & Cândido (2003) e Gomes (1977), quando analisaram os cladódios da palma forrageira *in natura*, e encontraram 90,7, 91,59 e 92,08% de umidade (b.u.), respectivamente.

Com relação ao teor de proteína bruta da palma forrageira, Araújo (2004), Barbosa (1998), Cavalcante & Cândido (2003) e Teixeira *et al.* (1999), encontraram respectivamente valores de 7,93, 5,7, 6,23 e 11,4% PB, quando expresso na base seca. 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.s.) estão de acordo com os encontrados na literatura.

Tabela 4.2. Caracterização química da palma forrageira *in natura*

	Valores médios *					
	Dez. 2005	Dez. 2006	Jan. 2007	Abr. 2007	Maio 2007	Jul. 2007
Umidade (%)	90,57	81,28	87,25	92,41	92,8	89,2
(b.u.)	± 0,23	± 0,45	± 0,52	± 0,80	± 0,66	± 2,48
pH	4,77	4,69	4,58	4,53	4,69	4,68
	± 0,21	± 0,15	± 0,08	± 0,12	± 0,03	± 0,04
Proteína bruta (%)	7,10	5,18	4,10	6,98	11,2	6,85
(b.s.)	± 0,68	± 0,47	± 0,36	± 0,5	± 1,2	± 0,96
Energia bruta (Mcal/kg)	3,07	-	2,90	-	-	-
(b.s.)	± 0,20		± 0,18			

* média de 5 amostras

Os baixos teores de matéria seca e proteínas são características confirmadas, em todos os experimentos que envolvem a palma. Essas características, juntamente com o baixo teor de fibra apresentado pela palma são os fatores apontados como principais responsáveis pela perda de peso dos animais, sendo vistos, portanto, como limitantes para a utilização dessa forragem.

O pH encontrado nas amostras foi em torno de 4,66 e segundo Khader, citado por Correia (2004) valores de pH em torno de 4,0 propiciam apenas o desenvolvimento de fungos e algumas leveduras.

O valor da energia bruta encontrado foi de aproximadamente 3,00 Mcal/kg. Araújo (2004) encontrou um valor de 3,720 Mcal/kg e maior que 1,6 Mcal/kg observado por Barbosa (1998).

4.2. Isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira

Através da correlação entre atividade de água e umidade (isotermas), pode-se otimizar as condições de crescimento dos microrganismos nessa forrageira, além de obter a faixa de umidade ideal para o armazenamento do enriquecido, que poderá ser utilizado como suplemento protéico na alimentação animal nos períodos de estiagem.

4.2.1. Isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura*

Os dados obtidos experimentalmente da atividade de água (a_w) com suas respectivas umidades de equilíbrio (X_{eq}) nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C, para a palma forrageira *in natura*, estão apresentados na Tabela A1, Apêndice A e representados graficamente na Figura 4.1.

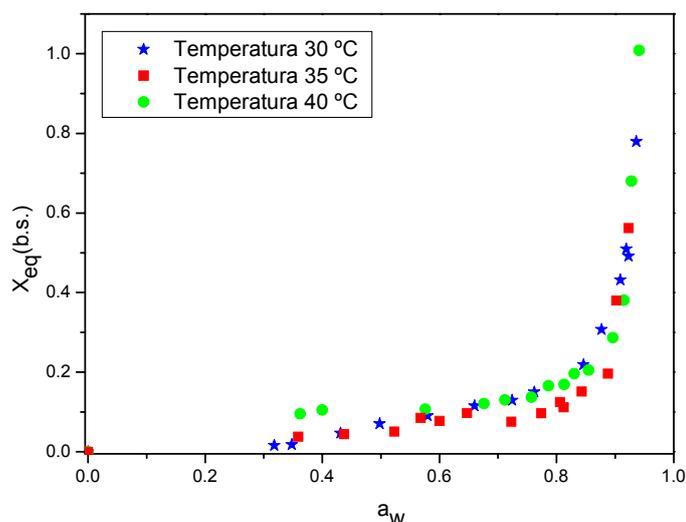


Figura 4.1. Influência da temperatura nas isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura*.

A Tabela 4.3 apresenta os parâmetros dos modelos de GAB, BET e Henderson, o coeficiente de determinação (R^2), o desvio médio relativo (P) e o comportamento da distribuição dos resíduos para o ajuste dos dados experimentais das isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura*, nas três temperaturas estudadas.

Tabela 4.3. Parâmetros de ajuste das isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura* para os diferentes modelos matemáticos

Modelo	Temperatura (°C)	Parâmetros			R ²	P (%)	Distribuição dos resíduos
		X _m	C	K			
GAB	30	0,028	39,034	1,028	0,994	27,3	Aleatório
	35	0,439	0,018	0,964	0,951	37,5	
	40	0,107	0,056	1,004	0,956	42,4	
BET		X _m	C	n			
	30	0,047	0,911	471	0,987	16,6	Aleatório
	35	0,072	0,107	392	0,954	37,7	
40	0,121	0,053	9590	0,956	41,4		
Henderson		a	b				Tendencioso
	30	3,837	0,578		0,986	15,4	
	35	7,003	0,785		0,903	24,2	
	40	6,793	0,978		0,818	30,4	

Analisando-se os dados apresentados na Tabela 4.3, para o modelo de GAB verifica-se que, excetuando-se a temperatura de 30 °C, os valores do conteúdo de umidade na monocamada molecular (X_m) diminuem com o aumento da temperatura. Esse comportamento foi descrito por Al-Muhtaseb *et al.* (2004), McLaughlin & Magee (1998), que afirmaram que esta tendência pode ser explicada pela variação do estado de agitação, distância e atração entre as moléculas de água com a variação da temperatura. Palipane & Driscoll (1992) também sugeriram que com o aumento da temperatura algumas moléculas de água podem romper fora de seus sítios de sorção, causando então um abaixamento dos valores de (X_m), ao invés de uma elevação, quando há um aumento de temperatura. Os valores da constante relacionada ao calor de sorção da camada molecular (C) aumentaram com a elevação da

temperatura de 35 para 40 °C. O parâmetro K apresentou valores praticamente iguais e em torno de 1.

Para o modelo de BET verifica-se comportamento contrário para os parâmetros (X_m) e (C) verificado no modelo de GAB, ou seja, o valor de (X_m) cresce com o aumento da temperatura e (C) decresce quando a temperatura é aumentada. Destacando a temperatura de 40 °C pode se observar que os valores de (X_m) e (C) das equações de BET e GAB são bem próximos. Pena *et al.* (2000) também encontraram valores de (X_m) e (C) semelhantes para os modelos de BET e GAB quando estudaram a aplicação de modelos matemáticos bi e tri-paraméricos na predição de isotermas de adsorção de umidade do guaraná (*Paullinia cupana*) em pó, nas temperaturas de 15, 25 e 35 °C. Com relação ao parâmetro (n) ocorre uma diminuição de 30 a 35 °C, e volta a subir na isoterma de 40 °C. O comportamento dos três parâmetros do modelo de BET apresentado neste trabalho foi semelhante ao apresentado pelas isotermas de dessorção da palma forrageira, nas mesmas temperaturas, quando ajustada por esse modelo por Araújo (2004).

Para o modelo de Henderson não foi verificado nenhuma influência das temperaturas estudadas com os valores encontrados para o parâmetro (a). Verificou-se também que os valores do parâmetro (b) aumentaram com o aumento da temperatura.

Os critérios usados para a escolha do modelo que melhor se ajustou aos dados experimentais foram o coeficiente de determinação (R^2), o desvio médio relativo (P) e o comportamento da distribuição dos resíduos. De acordo com os valores de (R^2) e (P) dos modelos ajustados às isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura*, apresentados na Tabela 4.3, os três modelos testados descrevem com razoável precisão as isotermas nas diferentes temperaturas, sendo o modelo de GAB e BET os que apresentaram maior precisão, com valores do coeficiente de determinação e do desvio médio relativo bem próximos entre si. Lomauro *et al.* (1985) verificaram que a equação de GAB pode representar bem as isotermas em mais de 50% de frutas quando comparadas com equações de dois parâmetros, sendo assim amplamente utilizada para descrever isotermas de sorção de diversos produtos, como constatado por Oliveira *et al.* (2005a, 2005b), Araújo *et al.*

(2005) e Gabas (1998) que testaram vários modelos matemáticos para o ajuste dos dados das isotermas, em diversas temperaturas, da casca do maracujá, casca do abacaxi, palma forrageira e uva Itália, respectivamente, concluindo que GAB foi o modelo que melhor ajustou as isotermas.

A Figura 4.2 apresenta a isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura* na temperatura de 30 °C, ajustada pelo modelo de GAB. Observa-se que houve um bom ajuste em toda a faixa de (a_w) estudada, destacando-se os valores de a_w acima de 0,8.

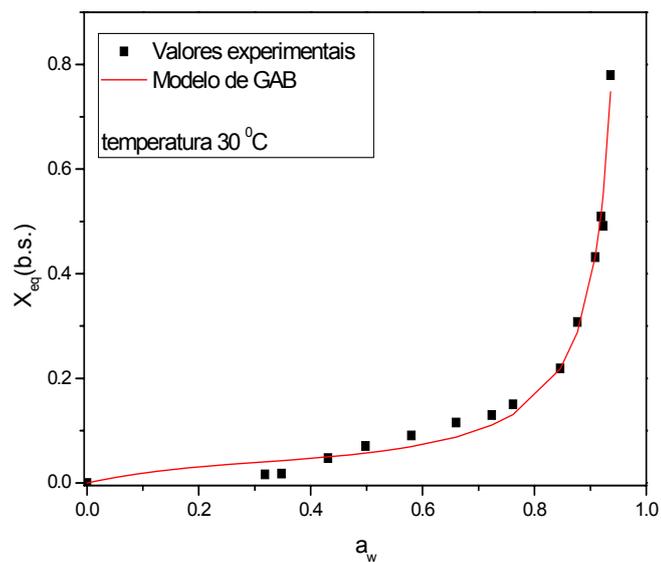


Figura 4.2. Isotherma de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura*, na temperatura de 30 °C, ajustada pelo modelo de GAB.

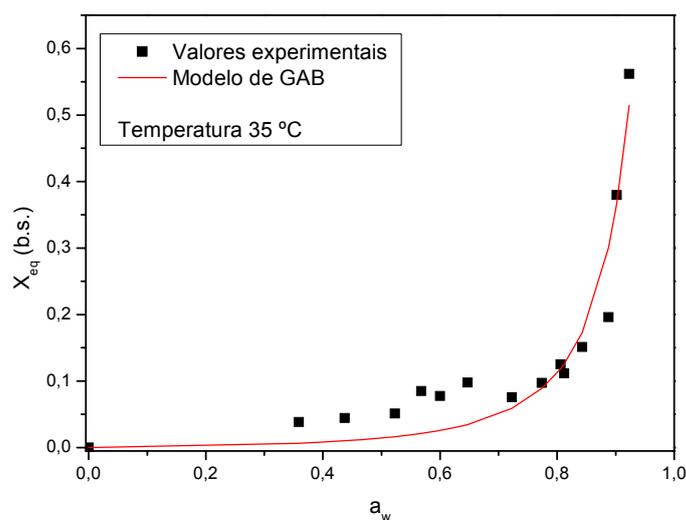


Figura 4.3. Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura*, na temperatura de 35 °C, ajustada pelo modelo de GAB.

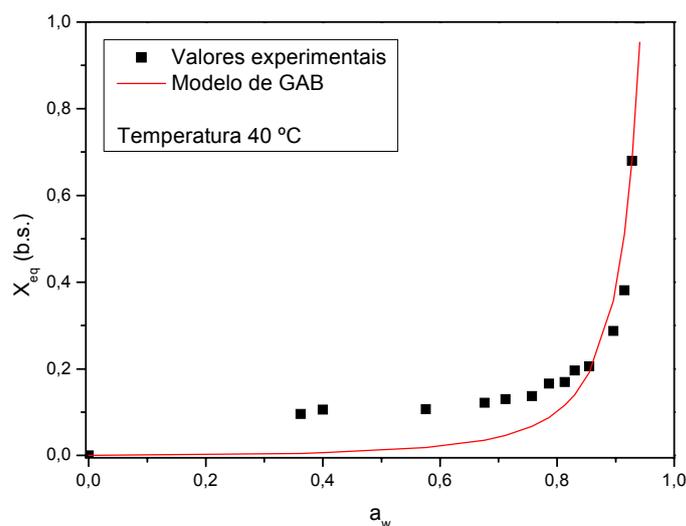


Figura 4.4. Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura*, na temperatura de 40 °C, ajustada pelo modelo de GAB.

As Figuras 4.3 e 4.4 ilustram as isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura* nas temperaturas de 35 e 40 °C, ajustadas pelo modelo de GAB. Verifica-se que na faixa de a_w acima de 0,8, o modelo ajustou-se melhor aos dados experimentais. Com relação ao valor de X_m encontrado

para a isoterma de 35 °C observou-se uma diferença entre o valor encontrado através do ajuste do modelo matemático de GAB e o encontrado graficamente. Essa diferença pode ser compreendida devido ao razoável ajuste do modelo matemático aos dados experimentais.

As Figuras 4.5, 4.6 e 4.7 apresentam as isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura* nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C, ajustadas pelo modelo de BET. Apesar das restrições do uso do modelo de BET para a_w acima de 0,6, pode-se verificar que nestes casos o modelo ajustou-se satisfatoriamente aos dados experimentais nas três temperaturas estudadas, sendo novamente os valores com uma atividade de água acima de 0,8 os que melhor ajustaram-se ao modelo.

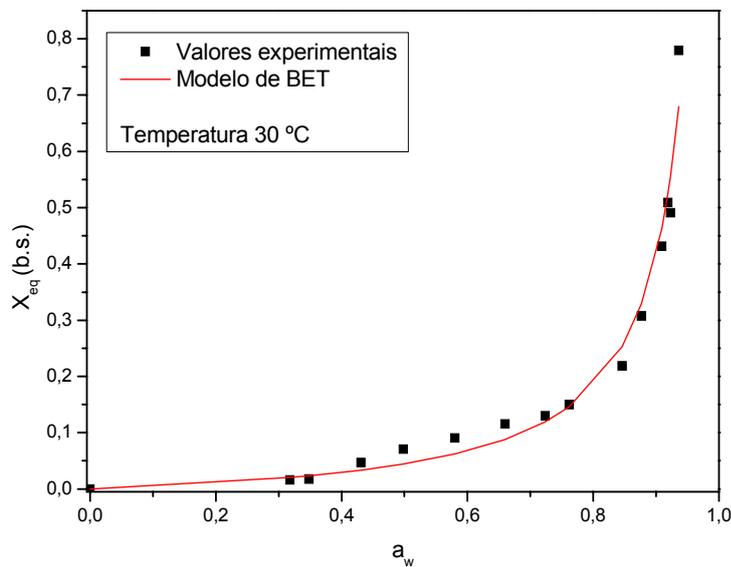


Figura 4.5. Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura*, na temperatura de 30 °C, ajustada pelo modelo de BET.

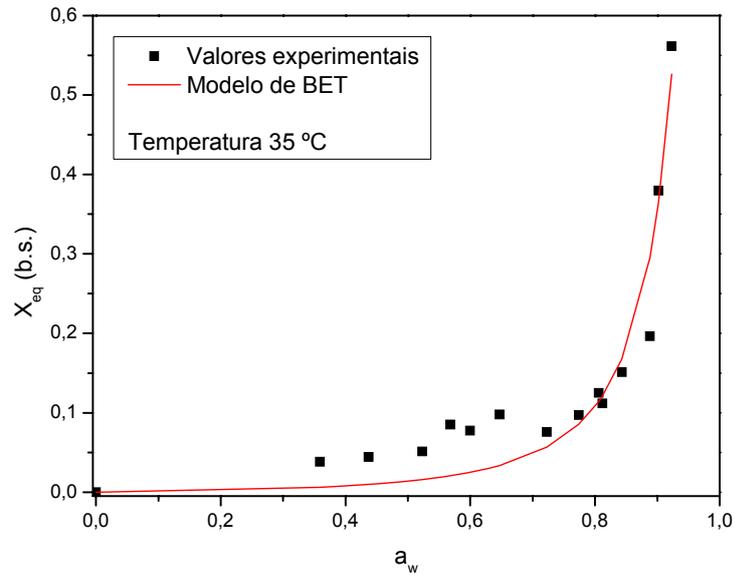


Figura 4.6. Isotherma de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura*, na temperatura de 35 °C, ajustada pelo modelo de BET.

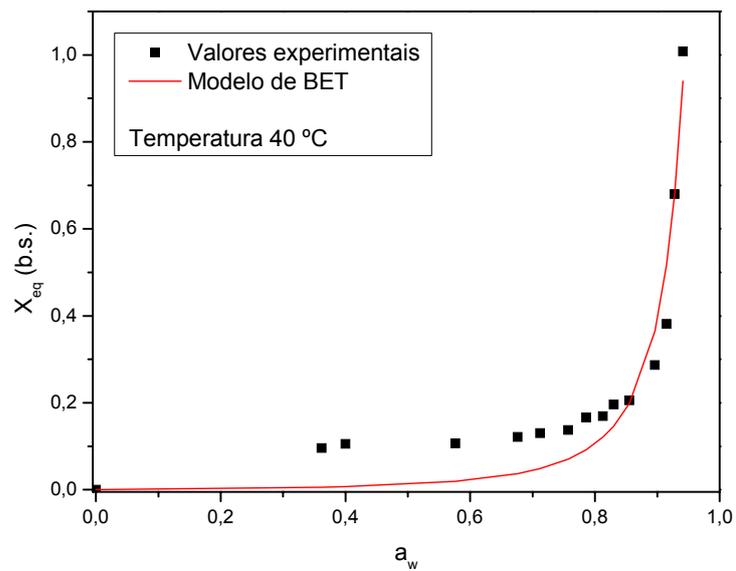


Figura 4.7. Isotherma de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura*, na temperatura de 40 °C, ajustada pelo modelo de BET.

As Figuras 4.8, 4.9 e 4.10 apresentam as isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura*, nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C, respectivamente, ajustadas pelo modelo de Henderson. Observa-se um bom ajuste na isoterma de 30 °C em toda a faixa de a_w estudada (Figura 4.8). No entanto para a isoterma de 35 °C o modelo ajustou-se melhor para os valores de a_w até 0,7.

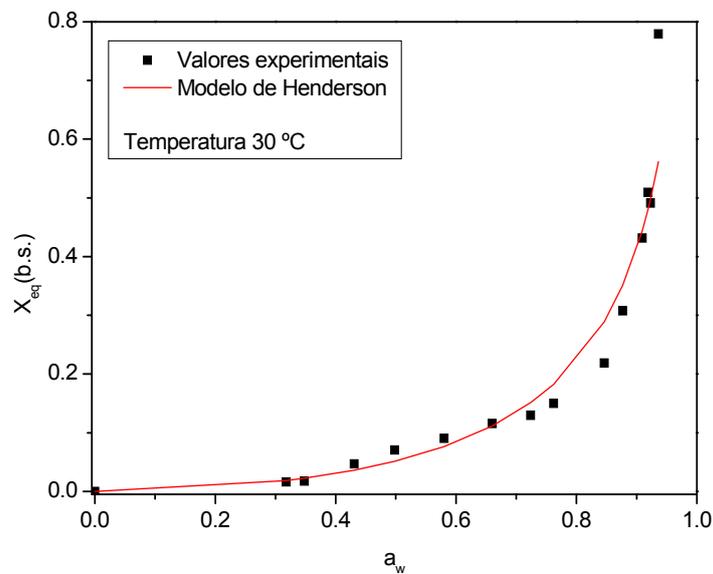


Figura 4.8. Isotherma de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura*, na temperatura de 30 °C, ajustada pelo modelo de Henderson.

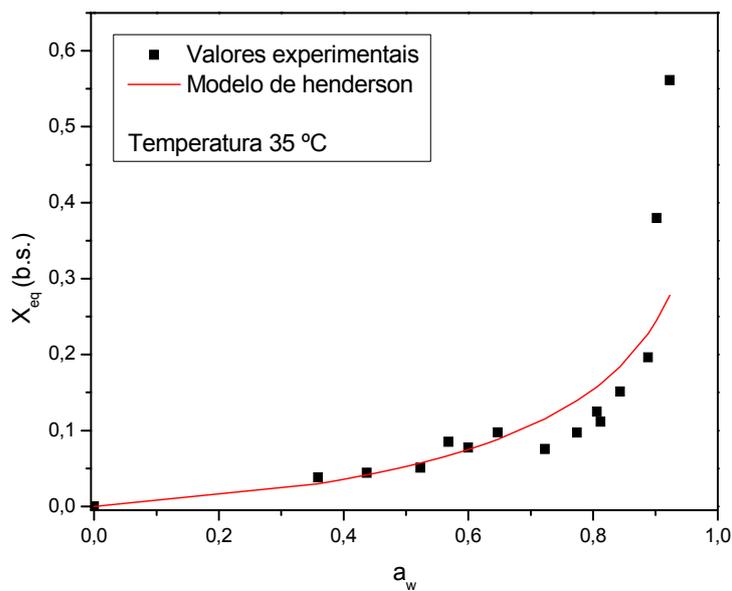


Figura 4.9. Isotherma de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura*, na temperatura de 35 °C, ajustada pelo modelo de Henderson.

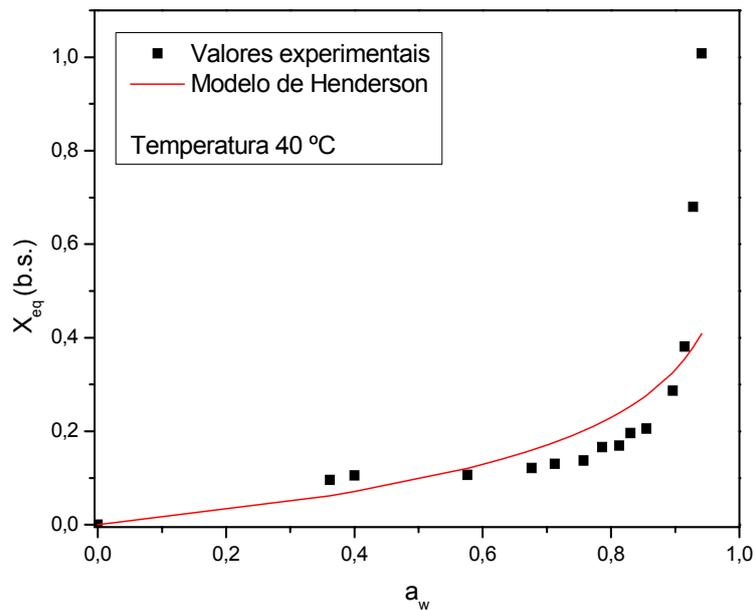


Figura 4.10. Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura*, na temperatura de 40 °C, ajustada pelo modelo de Henderson.

As isotermas de adsorção da palma forrageira *in natura* nas três temperaturas estudadas apresentam o tipo III. Park & Nogueira (1992) definem este tipo de isoterma, segundo a classificação de BET, observando-se a forma das isotermas, que são do tipo III quando a forma tem aparência da letra J. Blahovec (2004) estudou alguns modelos de isotermas de sorção realizando um estudo matemático sobre os valores aceitáveis para cada parâmetro. Para o modelo de GAB e para as curvas do tipo III este autor afirma que $0 < K \leq 1$ e $0 \leq C \leq 2$. Observando-se os parâmetros do modelo de GAB (Tabela 4.3), verifica-se que os valores de K estão entre 0,96 e 1,0 e os valores de C são menores do que 2, para as isotermas de 35 e 40 °C, tendo assim, a confirmação matemática do tipo de isotermas obtidas neste estudo. Essa forma é típica de produtos com altas concentrações de açúcares e solutos e que apresentam pouca adsorção por capilaridade. Verifica-se que mesmo usando critérios diferentes para a classificação das isotermas os resultados são concordantes entre os autores.

As isotermas do tipo III são características da adsorção em multicamadas. Podem ocorrer em sólidos não porosos, onde a adsorção ocorre

na superfície externa das partículas do material, em sólidos macroporosos ou ainda, em materiais com mesoporos, os quais possuem uma geometria que a condensação só ocorre à pressão de saturação (Pena *et al.*, 2000).

O comportamento dos resíduos baseados na diferença entre os valores experimentais e calculados para cada modelo matemático analisado são apresentados nas Figuras 4.11, 4.12 e 4.13. Verificou-se que a distribuição dos resíduos para os modelos de GAB e BET (Figuras 4.11 e 4.12) apresentou comportamento aleatório, indicando serem estes modelos apropriados para a descrição das isotermas da palma forrageira *in natura*, nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C. No entanto, para o modelo de Henderson (Figura 4.13) observou-se uma distribuição tendenciosa dos resíduos, sugerindo que a equação que descreve este modelo representa de forma menos satisfatória o fenômeno estudado.

Em resumo, pode-se dizer que todos os modelos testados representaram, razoavelmente bem, as isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura*. Sendo os modelos de GAB e BET os que apresentaram o melhor ajuste, por apresentarem as melhores combinações entre R^2 , P e distribuição dos resíduos.

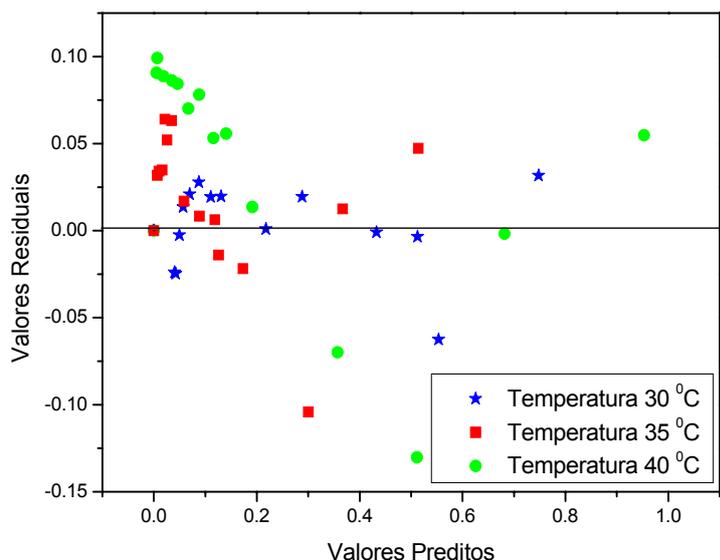


Figura 4.11. Distribuição dos resíduos para o modelo de GAB, em função dos valores preditos.

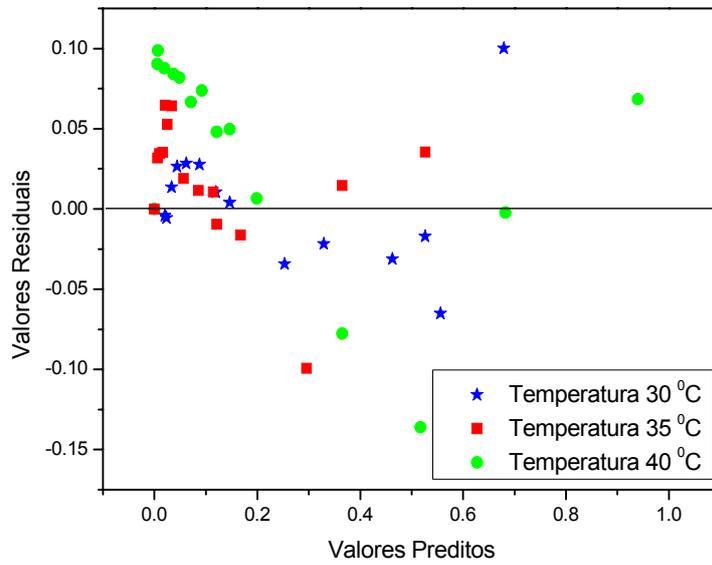


Figura 4.12. Distribuição dos resíduos para o modelo de BET, em função dos valores preditos.

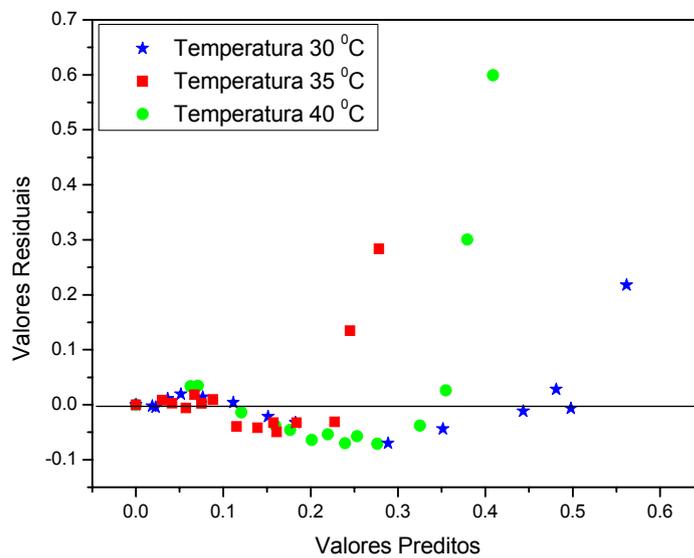


Figura 4.13. Distribuição dos resíduos para o modelo de Henderson, em função dos valores preditos.

O microrganismo que foi utilizado na fermentação da palma forrageira, visando seu enriquecimento nutricional foi a levedura *Sacharomyces*

cerevisiae. Santin (1996), que apresenta valores de atividade de água mínimos para o crescimento de alguns microrganismos, afirma que a atividade de água mínima de crescimento da *Saccharomyces cerevisiae* está em torno de 0,89, abaixo desse valor o crescimento da levedura será inibido, podendo não se desenvolver. Para o caso de se determinar as condições necessárias para o início da fermentação deste produto à temperatura de 30 °C, com o modelo de GAB para a isoterma desta mesma temperatura (Figura 4.2), o valor correspondente da umidade de equilíbrio (b.s.) será acima de 0,334.

4.2.2. Isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente

Os dados obtidos experimentalmente da atividade de água (a_w) com suas respectivas umidades de equilíbrio (X_{eq}) nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C, para a palma forrageira enriquecida nutricionalmente através da fermentação semi-sólida, estão apresentados na Tabela A2, Apêndice A.

A Figura 4.14 ilustra a influência da temperatura nas isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente. Pode-se observar que os pontos experimentais das isotermas de adsorção estão praticamente alinhados nas três temperaturas estudadas. Dessa forma, verifica-se pouco efeito da temperatura sobre as isotermas estudadas, podendo ser justificado pela pequena variação nos níveis de temperatura estudada (30, 35 e 40 °C). Estas temperaturas aproximam-se da temperatura média anual encontrada para a região semi-árida do Nordeste brasileiro.

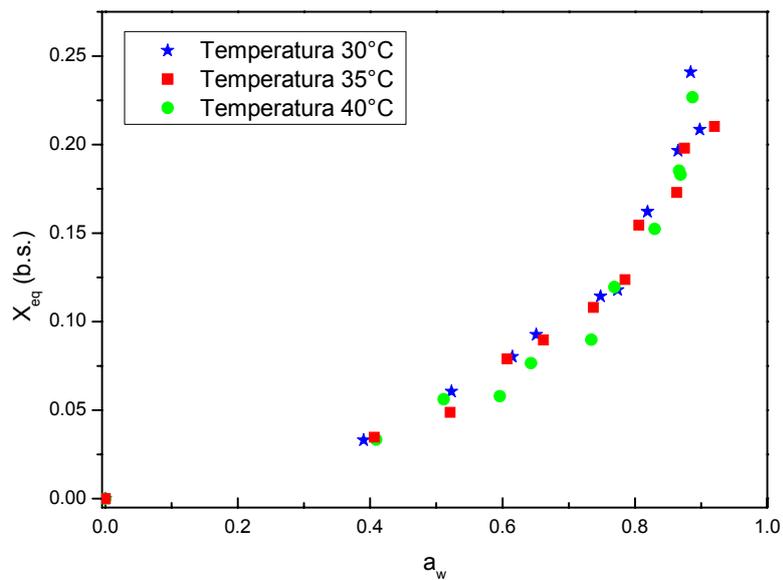


Figura 4.14. Influência da temperatura nas isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente.

A Tabela 4.4 apresenta os parâmetros dos modelos de GAB, BET e Henderson, o coeficiente de determinação (R^2), o desvio médio relativo (P) e o comportamento da distribuição dos resíduos para o ajuste aos dados experimentais das isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, nas três temperaturas estudadas.

Tabela 4.4. Parâmetros de ajuste das isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente para os diferentes modelos matemáticos

Modelo	Temperatura (°C)	Parâmetros			R ²	P (%)	Distribuição dos resíduos
		X _m	C	K			
GAB	30	0,053	1,571	0,893	0,982	6,40	Tendencioso
	35	0,139	0,548	0,723	0,991	5,26	
	40	0,028	6,319	0,984	0,996	6,18	
BET		X _m	C	n			
	30	0,241	0,104	5,739	0,974	10,88	Aleatório
	35	0,035	2,719	14,991	0,992	5,89	
40	0,367	0,055	5,879	0,980	11,12		
Henderson		a	b				
	30	7,652	0,815		0,992	5,84	Aleatório
	35	8,513	0,838		0,992	5,60	
40	7,674	0,783		0,988	5,77		

Analisando-se os dados apresentados na Tabela 4.4 verifica-se que para o modelo de GAB o valor do parâmetro (X_m) aumenta quando a temperatura é elevada para 35 °C e diminui com o aumento da temperatura, o valor de (C) diminui quando a temperatura é aumentada de 30 para 35 °C e aumenta quando passa de 35 para 40 °C. Para o modelo de BET o valor de (X_m) diminui com o aumento da temperatura e em seguida aumenta quando a temperatura é elevada para 40 °C. O valor de (C) aumenta e em seguida diminui com o progressivo aumento da temperatura. Dessa forma os valores do conteúdo de umidade na monocamada molecular (X_m) e da constante de BET relacionada ao calor de sorção da camada molecular (C) das equações de GAB e BET apresentaram comportamentos contrários, no entanto, não observou-se uma influência nos valores destes parâmetros com relação as temperaturas estudadas.

Verificou-se discreta mudança nos valores dos parâmetros (a) e (b) com o aumento da temperatura. Dessa forma pode-se deduzir que não houve, praticamente, influência da temperatura sobre os parâmetros (a) e (b) do modelo de Henderson.

De acordo com os resultados dos valores do coeficiente de determinação (R^2) e do erro médio relativo (P), o modelo de Henderson descreveu melhor as isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, nas três temperaturas estudadas.

As Figuras 4.15, 4.16 e 4.17 apresentam as isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C, respectivamente, ajustadas pelo modelo de GAB. Pode-se verificar que o modelo de GAB ajustou-se razoavelmente aos dados experimentais das três isotermas em toda a faixa (a_w) de estudada.

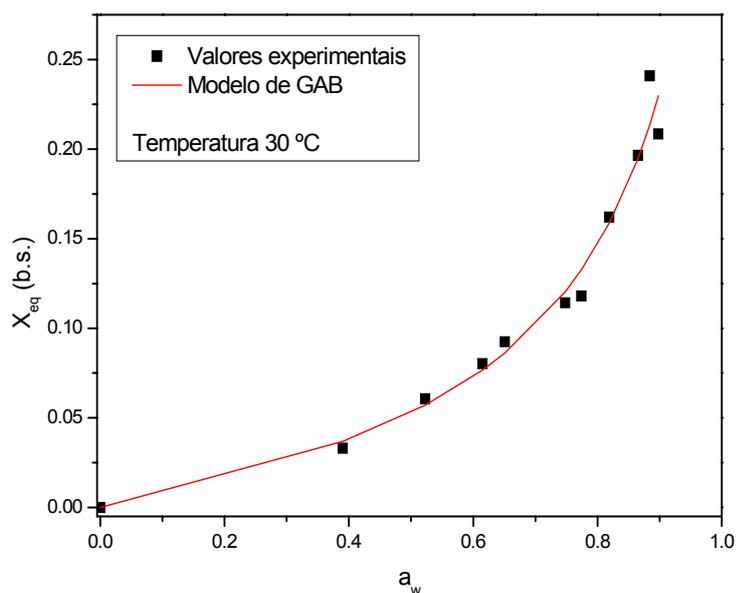


Figura 4.15. Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 30 °C, ajustada pelo modelo de GAB.

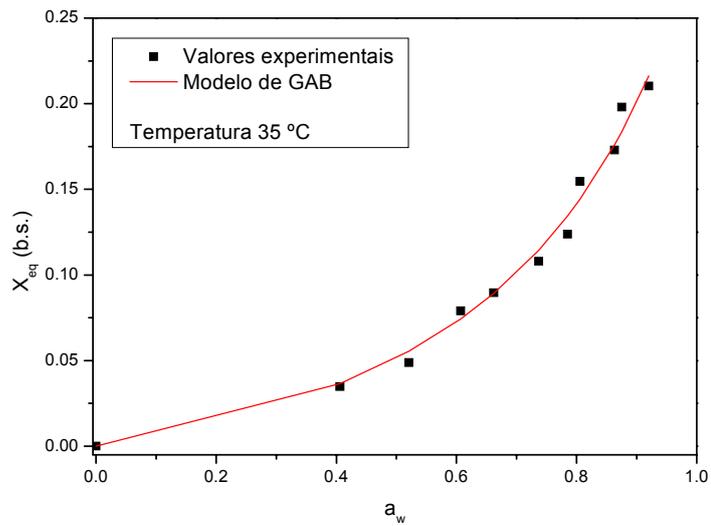


Figura 4.16. Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 35°C, ajustada pelo modelo de GAB.

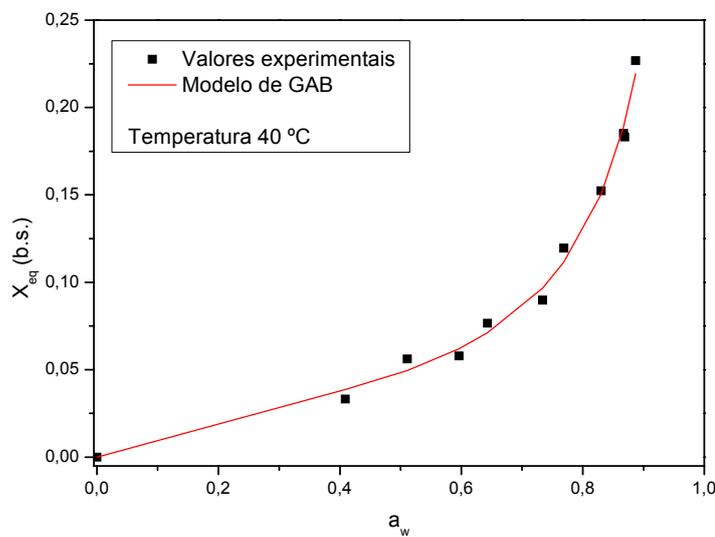


Figura 4.17. Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 40 °C, ajustada pelo modelo de GAB.

As Figuras 4.18, 4.19 e 4.20 apresentam as isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente nas temperaturas de

30, 35 e 40 °C, ajustadas pelo modelo de BET. Nas Figuras 4.18 e 4.20, o modelo de BET ajustou-se razoavelmente bem aos dados das isotermas de 30 e 40 °C para valores de (a_w) baixos. Na Figura 4.19 observa-se um bom ajuste do modelo aos dados da isoterma de 35 °C em toda a faixa de atividade de água estudada.

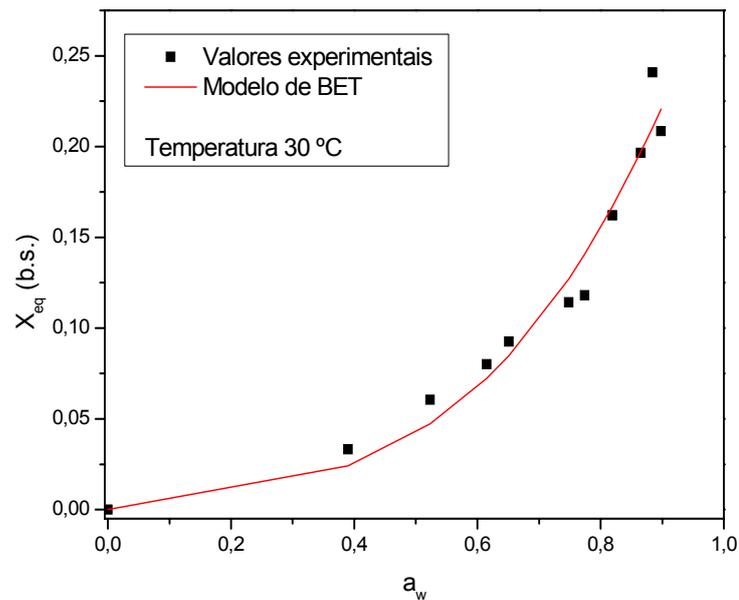


Figura 4.18. Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 30 °C, ajustada pelo modelo de BET.

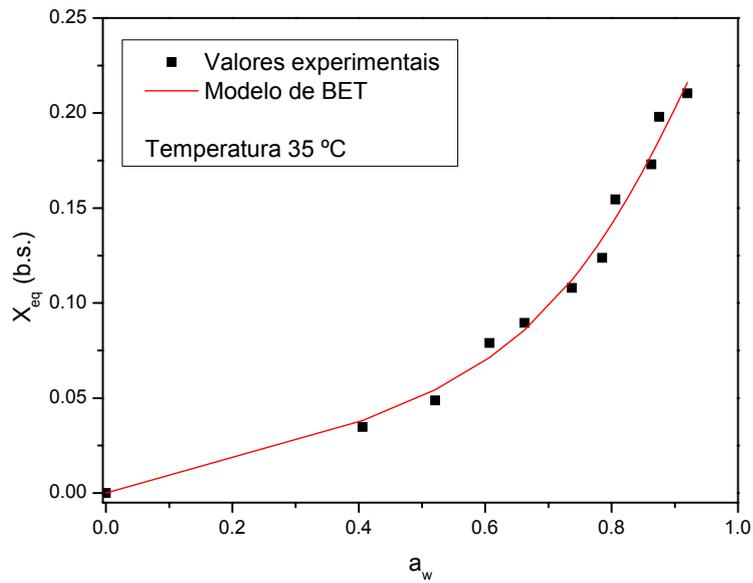


Figura 4.19. Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 35 °C, ajustada pelo modelo de BET.

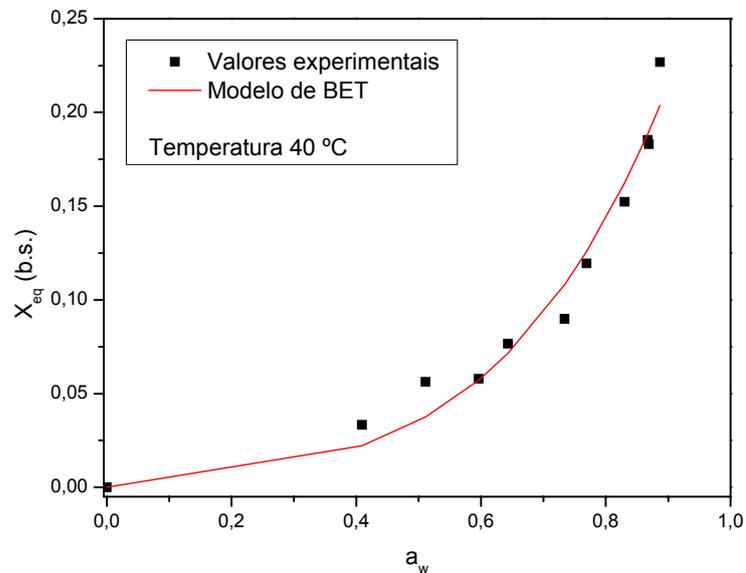


Figura 4.20. Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 40 °C, ajustada pelo modelo de BET.

As Figuras 4.21, 4.22 e 4.23 apresentam as isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C, ajustadas pelo modelo de Henderson. O modelo de Henderson, apesar de bi paramétrico, foi o que melhor ajustou-se aos dados das três isotermas em toda a faixa de a_w estudada.

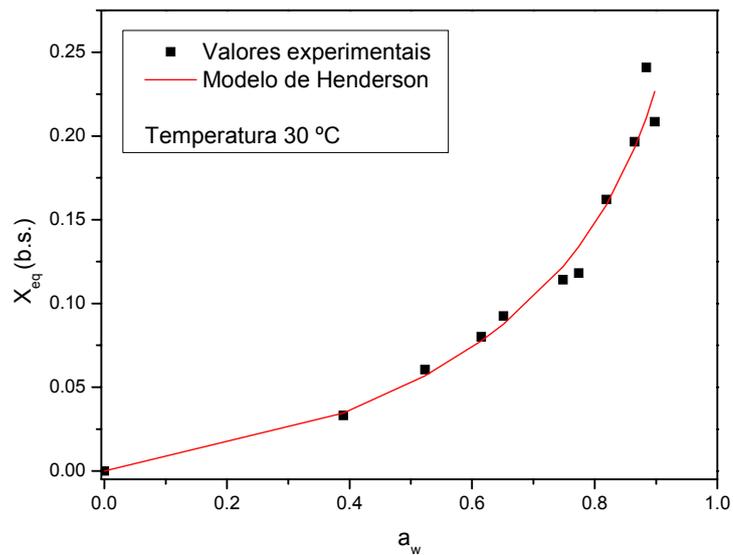


Figura 4.21. Isoterma de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 30 °C, ajustada pelo modelo de Henderson.

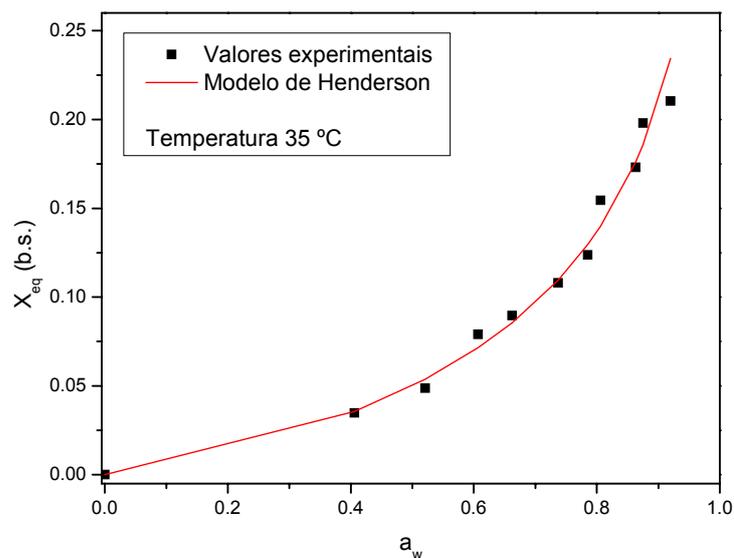


Figura 4.22. Isotherma de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 35 °C, ajustada pelo modelo de Henderson.

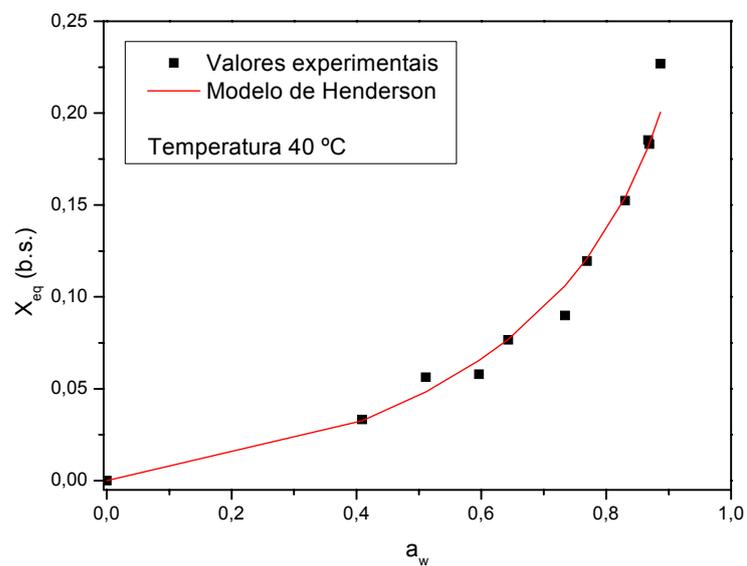


Figura 4.23. Isotherma de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 40 °C, ajustada pelo modelo de Henderson.

Segundo Park & Nogueira (1992) todas as isotermas estudadas de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente são do tipo III, de acordo com a classificação de BET, pois apresentam a forma da letra J. Observando-se os parâmetros do modelo de GAB (Tabela 4.4), verifica-se que para as isotermas de 30 e 35 °C, os valores de K estão entre 0,723 e 0,893 e os valores de C são menores do que 2, confirmando numericamente que estas isotermas seguem o tipo III (Blahovec , 2004).

Os resíduos baseados na diferença entre os valores experimentais e calculados para cada modelo matemático analisado são apresentados nas Figuras 4.24, 4.25 e 4.26. Verificou-se que a distribuição dos resíduos para os modelos de BET e Henderson (Figuras 4.25 e 4.26) apresentou comportamento aleatório, indicando ser estes modelos apropriados para a descrição das isotermas da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C. No entanto, para o modelo de GAB (Figura 4.24) observou-se uma distribuição tendenciosa dos resíduos, sugerindo que a equação que descreve este modelo representa de forma menos satisfatória o fenômeno estudado.

Em resumo, pode-se dizer que todos os modelos testados representaram, razoavelmente bem, as isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente. No entanto, o modelo de Henderson representou o melhor ajuste, uma vez que mostrou as melhores combinações entre valores maiores de R^2 e valores menores de P, além de um comportamento aleatório na distribuição dos resíduos (Tabela 4.4).

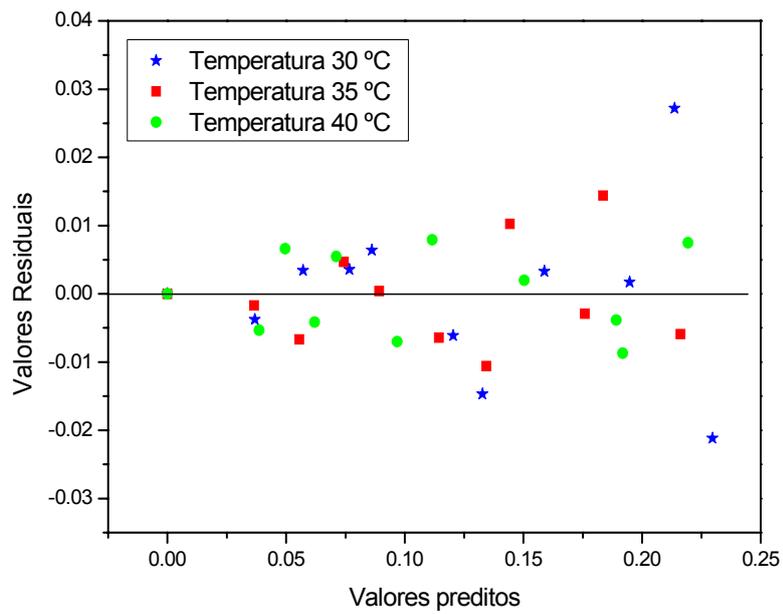


Figura 4.24. Distribuição dos resíduos para o modelo de GAB, em função dos valores preditos.

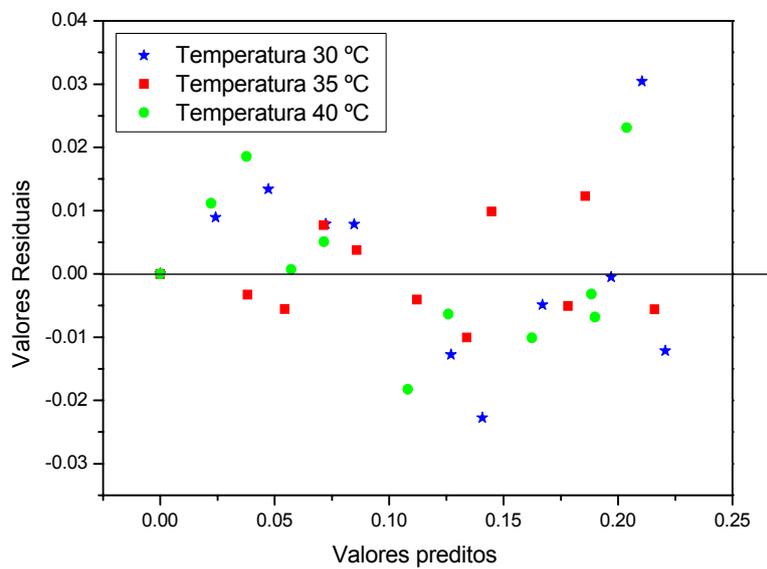


Figura 4.25. Distribuição dos resíduos para o modelo de BET, em função dos valores preditos.

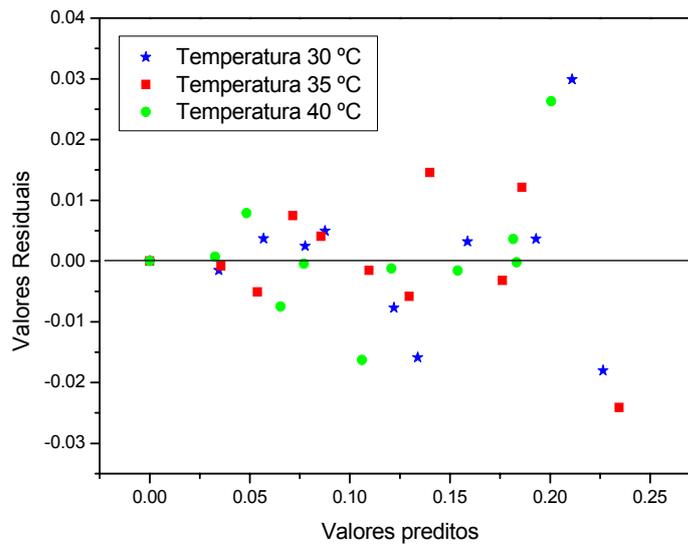


Figura 4.26. Distribuição dos resíduos para o modelo de Henderson, em função dos valores preditos.

Para o armazenamento da palma forrageira enriquecida proteicamente, não utilizando aditivos nem refrigeração, é necessário que a faixa ideal de atividade de água residual deva estar compreendida entre 0,25-0,35. Utilizando-se do modelo de Henderson, para obter parâmetros de armazenamento do material enriquecido observa-se que esta faixa de a_w corresponde a uma umidade (base seca) menor que 0,03, eliminando, desta forma, qualquer crescimento de microrganismos.

4.2.2.1. Calor isostérico de adsorção da palma forrageira enriquecida nutricionalmente

O estudo do calor de sorção é um importante parâmetro a ser obtido, porque através dele, é possível se ter uma idéia sobre a demanda energética nos processos de desidratação e secagem de materiais biológicos (Silva *et al.*, 2002).

A curva isotérmica de adsorção ($\ln [a_w]$ em função de $1/T$) (Figura 4.27), para as várias condições de umidade de equilíbrio das amostras, foi obtida baseada nos dados das curvas de equilíbrio higroscópico, ajustadas pelo

modelo de Henderson (melhor representação matemática do fenômeno de adsorção de umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente). Para cada umidade de equilíbrio foram realizadas regressões lineares dos dados com o objetivo de obter-se a inclinação das respectivas retas (Tabela 4.5). O valor do calor isostérico para cada conteúdo de umidade, corresponde ao valor do coeficiente de inclinação da reta (Figura 4.27), multiplicado pela constante universal dos gases ($R = 0,4618 \text{ kJ/K.kgH}_2\text{O}$), conforme propõe a equação de Clausius-Clapeyron (Equação 3.3).

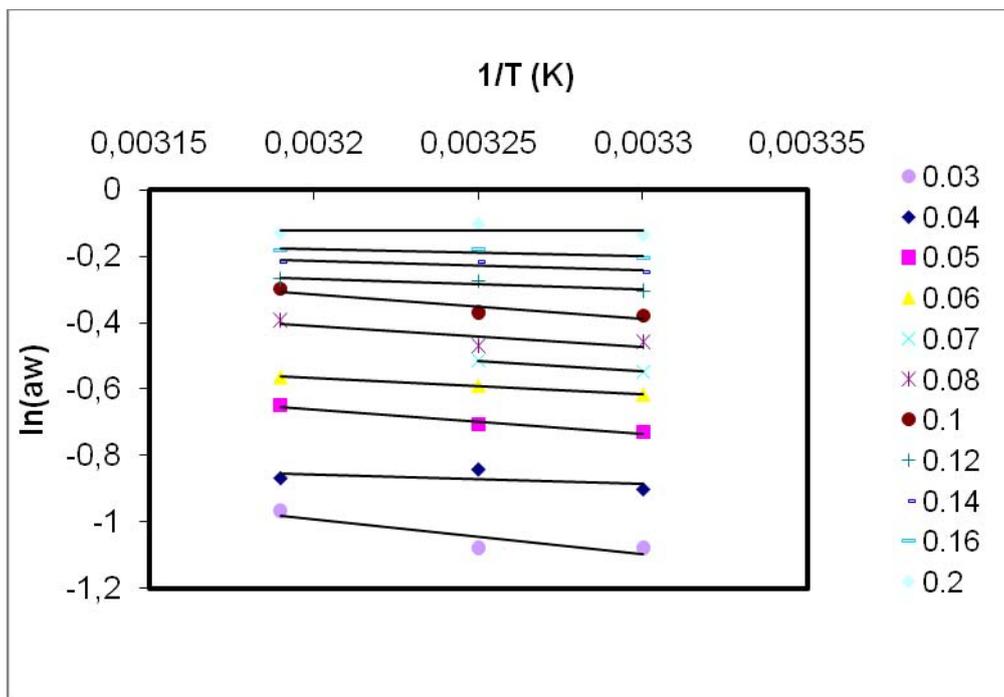


Figura 4.27. Curvas de $\ln(a_w)$ versus $1/T$, baseadas na equação de Clausius Clapeyron, para diferentes níveis de umidade.

Observando-se os dados da Tabela 4.5, nota-se um decréscimo do calor isostérico de adsorção (Q_{ST}) com o aumento da umidade de equilíbrio, ou seja, quanto menor a umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, mais energia é requerida para evaporar a água ligada à estrutura biológica do produto, ou seja, a evaporação de água da palma enriquecida requer energia para superar o calor de evaporação da água pura, aumentando com a diminuição da umidade.

Resultados e tendências semelhantes foram encontrados por Silva *et al.* (2002) e Gouveia *et al.* (1999) ao estudarem isotermas de sorção e o calor isostérico em polpa de manga e gengibre sem casca, respectivamente.

Tabela 4.5. Resultados das regressões lineares das curvas do calor de sorção para cada X_{eq}

X_{eq}	a_w			inclinação	R^2	Q_{st} (kJ/kg)
	30°C	35°C	40°C			
0,02	0,220	0,229	0,256	-1434,015	0,963	662,228
0,03	0,340	0,340	0,381	-1063,409	0,864	491,082
0,04	0,418	0,436	0,460	-921,804	0,996	425,689
0,05	0,482	0,493	0,522	-762,116	0,969	351,945
0,06	0,541	0,555	0,570	-500,82	0,999	231,279
0,08	0,622	0,645	0,651	-437,38	0,954	201,982
0,10	0,690	0,708	0,719	-395,186	0,990	182,497
0,12	0,738	0,760	0,765	-342,630	0,943	158,226
0,14	0,780	0,806	0,806	-316,110	0,875	145,980
0,16	0,816	0,838	0,836	-226,673	0,820	104,678
0,17	0,833	0,854	0,851	-205,899	0,816	95,084
0,18	0,849	0,868	0,862	-153,056	0,708	70,681
0,20	0,874	0,887	0,885	-120,616	0,782	55,700

Na Figura 4.28 é mostrada a representação do calor isostérico de adsorção em função da umidade de equilíbrio. O ajuste da curva do calor isostérico foi obtido utilizando-se um modelo empírico de três parâmetros Equação (3.4). Os parâmetros calculados para este modelo foram: $A = 82,716$, $B = 799,659$ e $C = 0,044$ com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,980. Com base nesses valores, pode-se dizer que o modelo prediz, com precisão, os valores do calor de adsorção na palma enriquecida nutricionalmente em função da umidade de equilíbrio. A proporcionalidade inversa do calor de sorção com a umidade de equilíbrio confirma o estudo de Iglesias & Chirife

(1976), que atribuíram este comportamento ao processo de sorção de umidade.

A Figura 4.28 mostra a quantidade de energia que deve ser retirada do produto durante a secagem, em função de sua umidade. Verifica-se que esta energia diminui acentuadamente até uma umidade de 0,12 (b.s.), para que o produto atinja este valor de umidade de equilíbrio é necessário uma energia de aproximadamente 180 kJ/kg H₂O. À medida que a umidade de equilíbrio aumenta o calor isostérico diminui. Isto porque nesse ponto, a capacidade de retenção de água do material começa a aumentar devido a uma concentração cada vez maior de proteínas, por exemplo. Segundo Iglesias & Chirife (1976) a camada monomolecular fica mais fortemente ligada aos grupos polares dessas substâncias, produzida por um aumento das ligações de hidrogênio das moléculas de água, que formam, progressivamente, estruturas ordenadas e rígidas, nas quais se precisaria de uma quantidade cada vez maior de energia para quebrá-las e poder liberar uma molécula de água na forma de vapor.

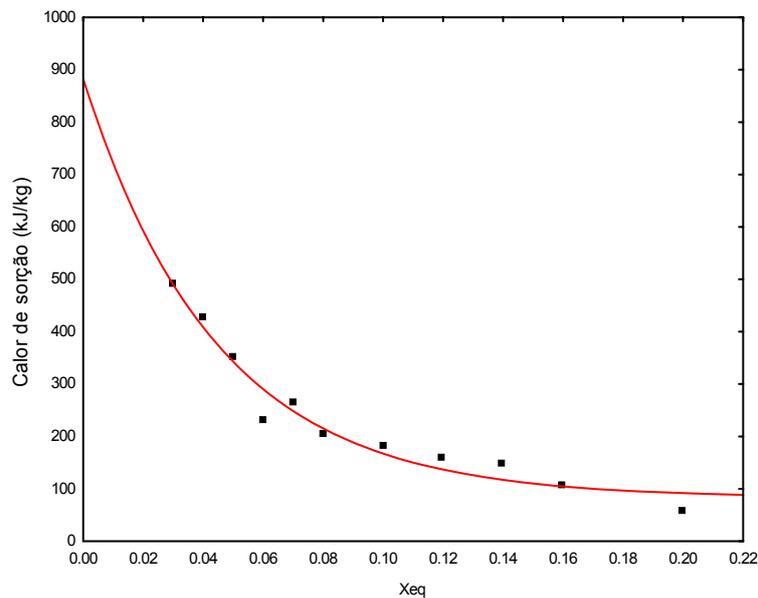


Figura 4.28. Calor isostérico de adsorção em função da umidade da palma forrageira enriquecida nutricionalmente (os pontos representam os dados experimentais e a linha o modelo estudado).

4.2.3. Estudo da histerese

As Figuras 4.29, 4.30 e 4.31 mostram as curvas de dessorção e adsorção da palma forrageira *in natura*, ajustadas pelo modelo de GAB, para cada temperatura estudada. As isotermas de dessorção da palma forrageira, apresentadas a seguir, foram estudadas inicialmente por Araújo (2004).

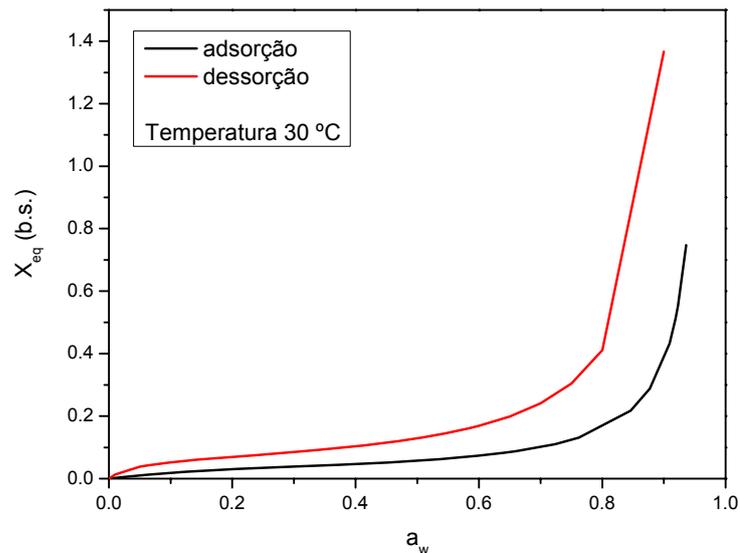


Figura 4.29. Histerese das isotermas de dessorção e adsorção de umidade da palma forrageira *in natura*, na temperatura 30 °C.

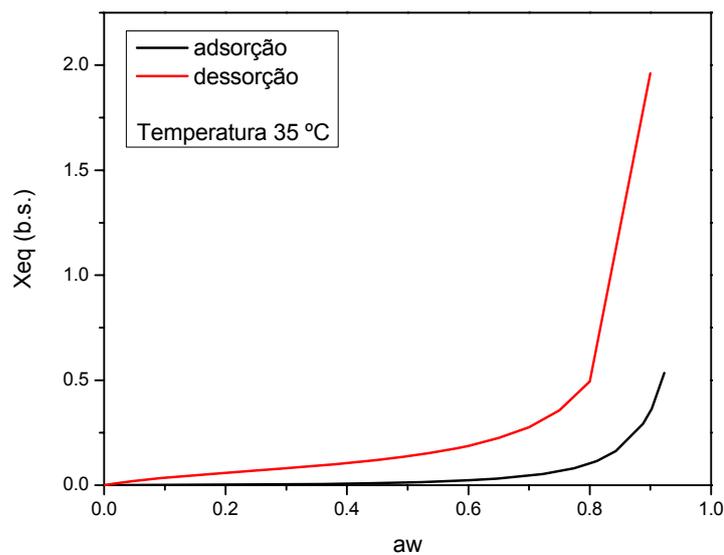


Figura 4.30. Histerese das isotermas de dessorção e adsorção de umidade da palma forrageira *in natura*, na temperatura 35 °C.

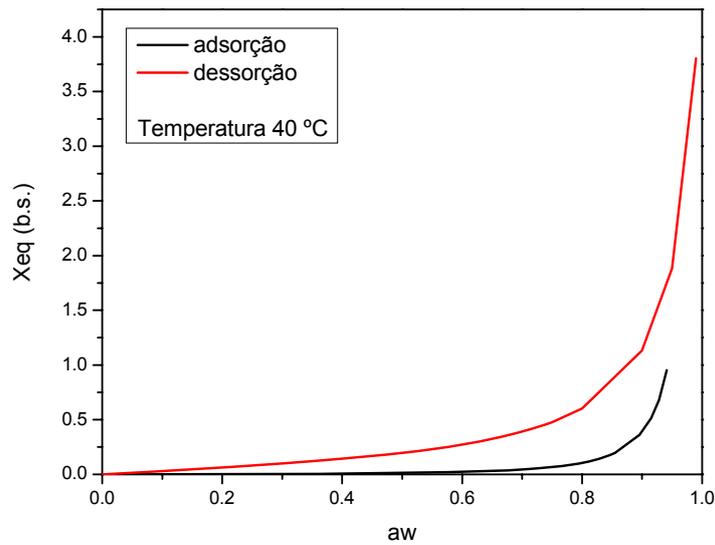


Figura 4.31. Histerese das isotermas de dessorção e adsorção de umidade da palma forrageira *in natura*, na temperatura 40 °C.

Mediante as figuras referenciadas, observa-se que para uma mesma umidade relativa, existem duas isotermas, denominadas de isotermas de dessorção e adsorção, obtidas em função das condições experimentais iniciais. As isotermas de adsorção apresentam valores de umidade de equilíbrio inferiores ao da isoterma de dessorção. Almeida (2007) encontrou resultados semelhantes ao estudar as isotermas de sorção do mandacaru, nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C. No entanto o comportamento das isotermas de dessorção e adsorção de batatas, estudadas por Iglesias & Chirife (1976) foi o oposto ao encontrado neste estudo, ou seja, a isoterma de adsorção apresenta valores de conteúdo de umidade de equilíbrio superiores ao da isoterma de dessorção.

Observa-se ainda nas Figuras 4.29, 4.30 e 4.31 que em uma das extremidades das curvas de sorção o efeito da histerese foi reduzido e segundo Almeida *et al.* apud Almeida (2007) a histerese apresentada pelas isotermas de sorção tende a desaparecer nas extremidades das curvas, justificando que os teores de umidade de equilíbrio são iguais independente do

caminho feito para se atingir o equilíbrio higroscópico, se por ganho ou perda de água.

4.2.4. Isotermas *in natura* x enriquecido

As Figuras a seguir (4.32, 4.33 e 4.34) apresentam os dados das isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura* e enriquecida nutricionalmente, nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C. Tal comparação foi realizada com o intuito de verificar influências do processo de enriquecimento nutricional na relação atividade de água e umidade de equilíbrio apresentada pelo produto. Todas as isotermas de adsorção da palma forrageira enriquecida foram construídas utilizando-se um único lote de material. Este produto foi o que alcançou os maiores resultados de aumento protéico durante as fermentações realizadas nos testes preliminares. As condições foram temperatura de fermentação de 40 °C e concentração de leveduras de 5%.

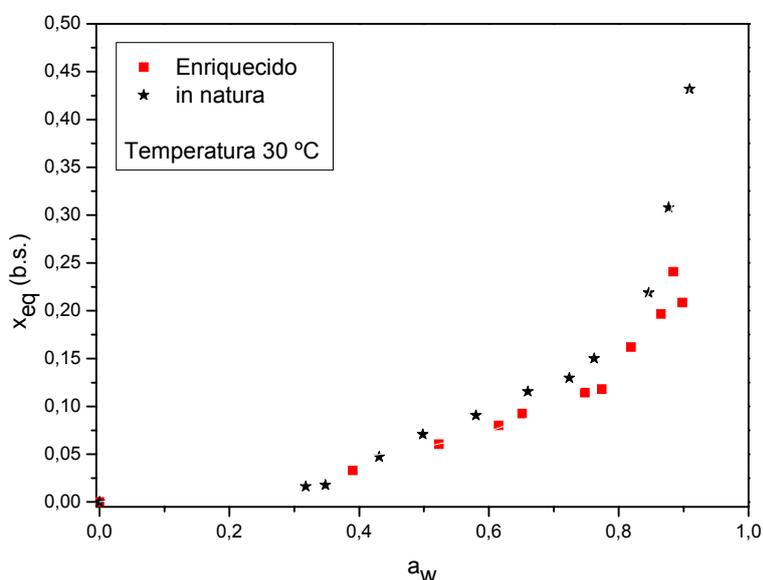


Figura 4.32. Isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura* e enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 30 °C.

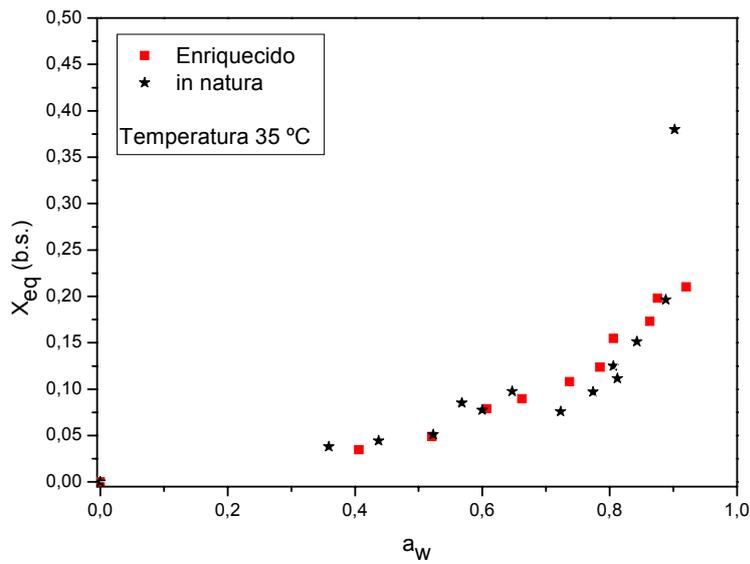


Figura 4.33. Isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura* e enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 35 °C.

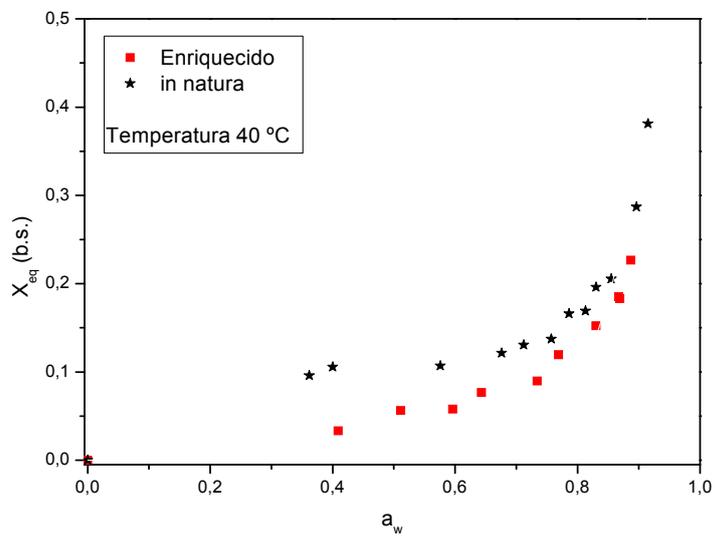


Figura 4.34. Isotermas de adsorção de umidade da palma forrageira *in natura* e enriquecida nutricionalmente, na temperatura de 40 °C.

Para as isotermas de adsorção de umidade nas temperaturas de 30 e 35 °C, Figuras 4.32 e 4.33, respectivamente, observa-se que não houve diferenças significativas entre os valores apresentados de a_w e X_{eq} pela palma *in natura* e enriquecida nutricionalmente, em ambas as isotermas estudadas.

Para as isotermas de adsorção de umidade na temperatura de 40 °C (Figura 4.34) verifica-se que para valores de a_w menores que 0,85 o processo de enriquecimento nutricional utilizando a levedura *Sacharomyces cerevisiae* influenciou na umidade de equilíbrio apresentada pela palma. Para um mesmo valor de umidade de equilíbrio a palma *in natura* apresenta um menor valor de atividade de água, quando comparada com a palma enriquecida. Este comportamento pode ser justificado pela provável hidrofobicidade do material, decorrente da redução dos carboidratos solúveis e aumento de proteínas no material fermentado. A possível redução dos carboidratos solúveis se deve ao seu consumo por parte da levedura, que os utilizam para seu metabolismo e conseqüente multiplicação.

4.3. Estudo cinético do enriquecimento nutricional da palma forrageira

Para uma melhor compreensão, os resultados do estudo do enriquecimento protéico da palma forrageira serão divididos em duas partes, a constar: estudos preliminares e estudos do enriquecimento nutricional com a utilização de diferentes biorreatores.

4.3.1. Estudo preliminar do processo de enriquecimento nutricional

No estudo preliminar do processo de enriquecimento nutricional da palma forrageira foi observado o comportamento do pH, do teor de umidade, proteína bruta e aumento protéico durante as fermentações semi-sólidas. Através dos resultados desse estudo foram fixadas as variáveis independentes que foram posteriormente estudadas no processo de enriquecimento nutricional da palma forrageira, com a *Saccharomyces cerevisiae*, utilizando os biorreatores bandeja e tambor rotativo.

Na Tabela 4.6 estão apresentados a variação do pH durante as fermentações semi-sólidas da palma forrageira, em diferentes temperaturas de fermentação e concentrações iniciais de leveduras.

Os valores de pH observados na Tabela 4.6 mostram que nos experimentos em que a temperatura de fermentação foi 40 °C (experimentos 1 e 2) o pH aumenta ao longo do tempo e após 48 h de fermentação diminui, tendendo a ficar estável. Nos experimentos 3 e 4, nos quais a temperatura de fermentação foi de 30 °C e experimentos 5, 6 e 7, onde a temperatura foi de 33 °C, houve uma elevação do pH durante todo o período fermentativo estudado.

Nas primeiras 24 h de fermentação não foi observado grandes mudanças no valor do pH do substrato. Esta pequena variação observada poderá provavelmente indicar estabilidade no processo, ou seja, não houve contaminação do substrato por outros microrganismos. Este fato pôde ser percebido também pelo aspecto visual do substrato. Após 48 h de fermentação o substrato apresentou odor desagradável e coloração escura em todos os experimentos, mostrando ser inviável prosseguir a FSS após esse tempo, nas condições operacionais utilizadas para esse estudo.

Correia (2004) estudou o pH durante o cultivo semi-sólido em resíduos de abacaxi, com a *Saccharomyces cerevisiae*, justificando a importância desta determinação no fato de que o pH constitui um fator intrínseco, que regula o crescimento dos microrganismos capazes de se desenvolver no meio. Em seus estudos percebeu-se pouca variação dos níveis de pH durante o cultivo (entre 4,2 e 4,7).

Tabela 4.6. Variação da média dos valores de pH no decorrer do processo fermentativo da palma forrageira (testes preliminares)

Experimentos	Tempo de fermentação (h)						
	0	12	24	48	72	96	120
1	-	4,76	5,58	7,15	6,5	6,08	5,84
2	-	5,04	5,63	6,87	6,79	6,81	6,79
3	4,77	4,81	5,31	5,35	5,72	-	-
4	4,73	4,81	5,34	5,35	5,93	-	-
5	4,64	4,63	5,13	6,56	6,94	-	-
6	4,62	4,65	5,29	6,94	7,34	-	-
7	4,65	4,62	5,25	6,85	7,07	-	-

Na Tabela 4.7 constam os valores de umidade (base úmida) dos substratos em diferentes temperaturas de fermentação e percentuais de concentração inicial de leveduras, referentes aos experimentos 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 do planejamento fatorial.

Através dos valores apresentados na Tabela 4.7, pode-se observar que em todos os experimentos houve diminuição no teor de umidade no curso das fermentações. A principal causa para esta variação é a evaporação da água contida no substrato, que é favorecida pelo uso do biorreator bandeja, que oferece uma ampla área superficial entre o substrato e o meio, quando comparado a outros tipos de biorreatores, por exemplo, o tambor. Outro fator que acelera o processo da evaporação da água do substrato é o fato de se utilizar uma estufa com circulação de ar forçada para controlar e fixar a temperatura da fermentação desejada.

Tabela 4.7. Valores de umidade (b.u.) das fermentações, com diferentes temperaturas de fermentação e percentuais de concentração inicial de leveduras

Experimentos	Tempo de fermentação (h)				
	0	12	24	48	72
1	93,11	92,53	90,35	88,04	85,15
2	91,76	90,84	88,95	88,86	81,76
3	91,79	91,36	91,68	91,15	89,74
4	91,67	91,36	91,44	90,29	89,23
5	92,76	92,53	92,27	90,9	89,23
6	92,23	91,91	91,44	90,0	89,28
7	92,25	91,87	91,91	90,5	89,66

A visualização gráfica dos comportamentos dos valores de pH e umidade durante as fermentações semi-sólidas realizadas nos testes preliminares referentes aos experimentos 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 estão apresentados nas Figuras 1A, 2A, 3A, 4A, 5A, 6A e 7A, Apêndice A.

Os valores de proteína bruta e aumento protéico referentes aos experimentos realizados nos teste preliminares durante 72 h de fermentação encontram-se na Tabela 4.8. Nas Figuras 4.35, 4.36, 4.37, 4.38, 4.39, 4.40 e 4.41 estão representados graficamente as variações dos percentuais de proteína bruta da palma forrageira durante o processo da FSS.

Tabela 4.8. Variação de proteína bruta e aumento protéico expressos na base seca da palma forrageira durante as fermentações realizadas nos testes preliminares

Exp.	<i>In natura</i>	Tempo de fermentação (h)									
		0		12		24		48		72	
		PB (%)	AP	PB (%)	AP	PB (%)	AP	PB (%)	AP	PB (%)	AP
1	7,76	12,70	1,64	13,05	1,68	14,79	1,90	13,79	1,78	15,15	1,95
2	7,79	17,74	2,28	19,48	2,50	20,07	2,58	19,84	2,55	21,67	2,78
3	9,55	10,15	1,06	11,09	1,16	11,23	1,17	10,92	1,14	11,46	1,20
4	9,55	15,00	1,57	16,72	1,75	18,05	1,89	17,09	1,79	18,43	1,93
5	9,77	16,01	1,64	17,17	1,76	18,42	1,88	16,78	1,72	17,74	1,81
6	10,5	15,86	1,51	16,78	1,60	18,16	1,73	16,21	1,54	16,26	1,55
7	9,67	17,34	1,79	17,4	1,80	17,69	1,83	17,36	1,79	18,18	1,88

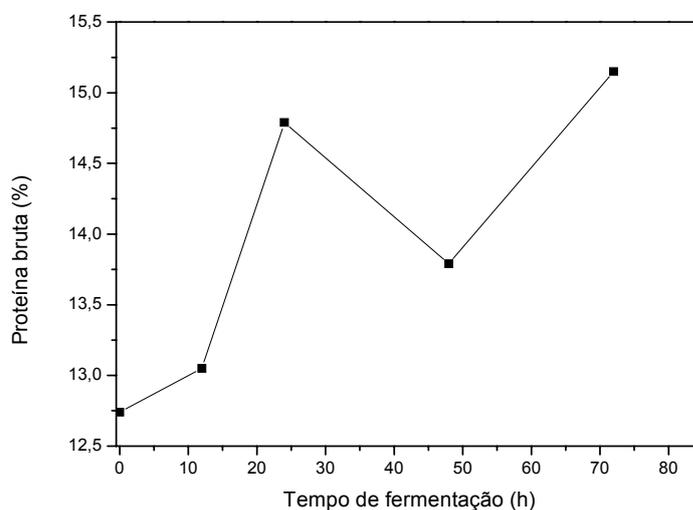


Figura 4.35. Perfil do percentual de proteína bruta durante a FSS da palma forrageira, testes preliminares, Experimento 1.

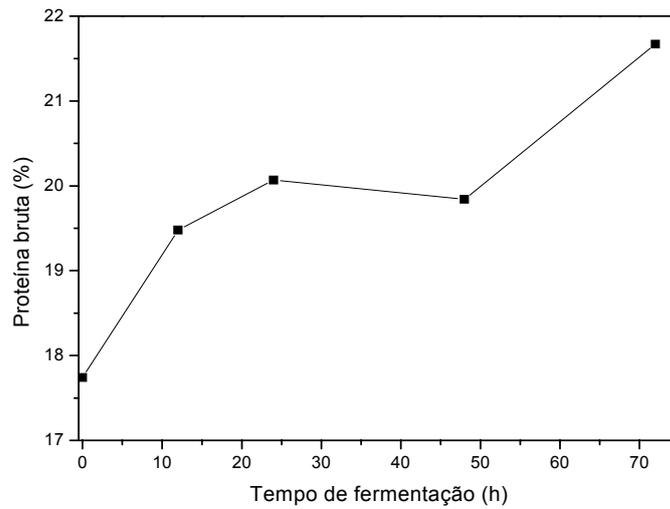


Figura 4.36. Perfil do percentual de proteína bruta durante a FSS da palma forrageira, testes preliminares, Experimento 2.

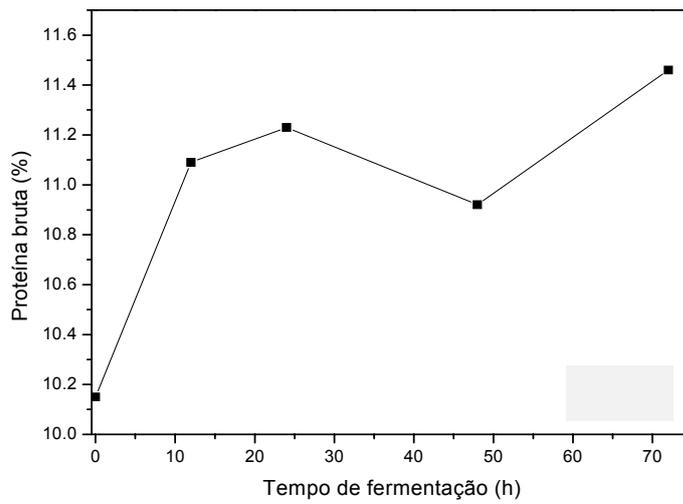


Figura 4.37. Perfil do percentual de proteína bruta durante a FSS da palma forrageira, testes preliminares, Experimento 3.

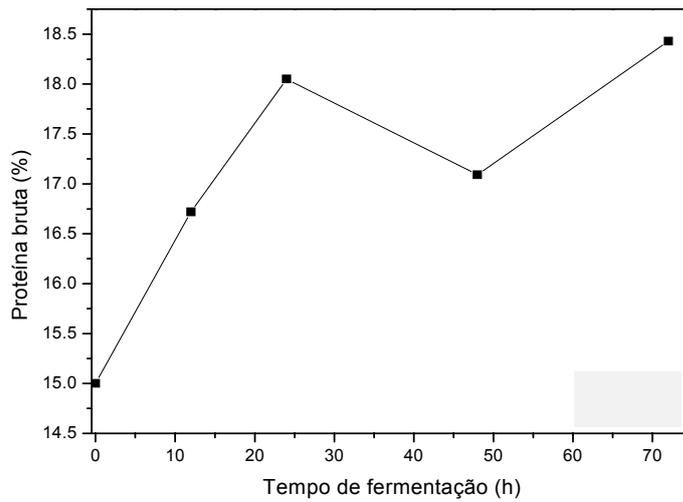


Figura 4.38. Perfil do percentual de proteína bruta durante a FSS da palma forrageira, testes preliminares, Experimento 4.

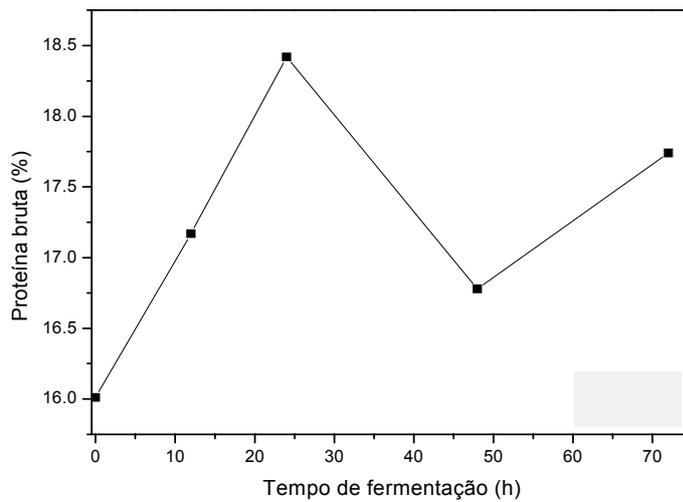


Figura 4.39. Perfil do percentual de proteína bruta durante a FSS da palma forrageira, testes preliminares, Experimento 5.

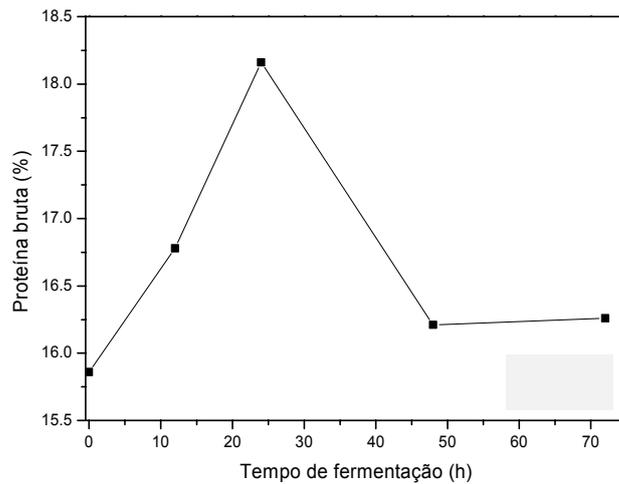


Figura 4.40. Perfil do percentual de proteína bruta durante a FSS da palma forrageira, testes preliminares, Experimento 6.

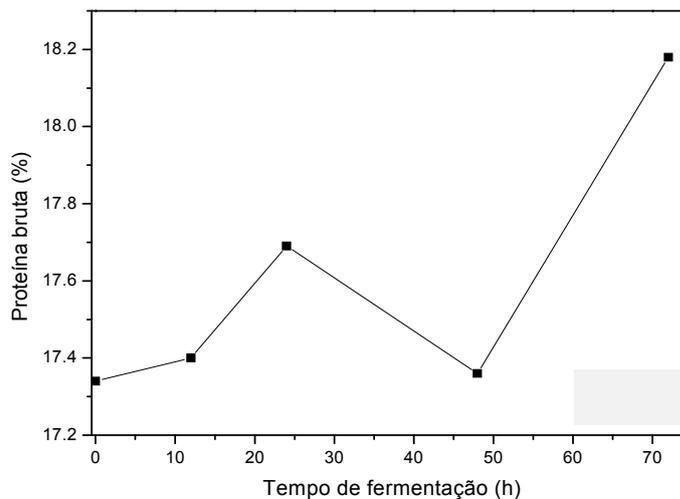


Figura 4.41. Perfil do percentual de proteína bruta durante a FSS da palma forrageira, testes preliminares, Experimento 7.

Através dos valores apresentados na Tabela 4.8 verifica-se que para os experimentos 1, 2, 3 e 4 os maiores percentuais de proteína bruta e de aumento protéico foram alcançados após 72 h de fermentação. Nos experimentos 5 e 6 os maiores teores de PB e AP foram obtidos após 24 h de processo. Com relação ao experimento 7, que é uma fermentação realizada

nas mesmas condições dos experimentos 5 e 6, pode-se verificar que os teores de PB e AP foram muito próximos entre si, nos tempos de 24 e de 72 h de fermentação e, por esse motivo será considerado que o experimento 7 alcançou os melhores resultados durante as primeiras 24 h de fermentação.

Mesmo sendo 72 h o tempo ótimo da fermentação, ou seja, o tempo em que se adquiriu os melhores resultados de aumento protéico, foi escolhido o intervalo de 24 h como sendo o tempo limite da fermentação, pois de acordo com os valores de pH e aspectos (cor e odor) das amostras percebeu-se que o aumento protéico conseguido após 24 h poderá ser resultado de uma possível contaminação do substrato por outros microrganismos.

Na Tabela 4.9 é apresentada a matriz do planejamento fatorial utilizado no estudo preliminar do enriquecimento nutricional da palma forrageira, com o intuito de avaliar a influência das variáveis escolhidas sobre o teor protéico da palma forrageira. Os resultados de percentual de proteína bruta e de aumento protéico alcançados durante 24 h de fermentação foram inseridos na matriz de planejamento.

Tabela 4.9. Matriz do planejamento fatorial 2²

Experimento	Temperatura de fermentação (°C)	Concentração de levedura (%)	Proteína Bruta (%)	Aumento Protéico
1	+1	-1	14,79	1,90
2	+1	+1	20,07	2,58
3	-1	-1	11,23	1,17
4	-1	+1	18,05	1,89
5	0	0	18,42	1,88
6	0	0	18,16	1,73
7	0	0	17,69	1,83

Com os dados experimentais para cada resposta foi realizada uma análise de regressão não linear múltipla para se obter os coeficientes dos modelos. O teor de proteína bruta (PB) e o aumento protéico (AP) podem ser expressos, em função das variáveis independentes pelo modelo matemático de

1ª ordem, representado pelas Equações 4.1 e 4.2, respectivamente, onde temperatura de fermentação (T), concentração inicial de leveduras (C_L) e interação da temperatura com a concentração inicial de leveduras (T.C_L). Os coeficientes do modelo que tiveram efeitos significativo na resposta, ao nível de 95 % de confiança, foram destacados.

$$PB (\%) = \mathbf{16,92} + 1,39T + \mathbf{3,02C_L} - 0,38T.C_L \quad (4.1)$$

$$AP = \mathbf{1,85} + \mathbf{0,35T} + \mathbf{0,35C_L} - 0,01T.C_L \quad (4.2)$$

O valor de R² obtido para a resposta PB foi igual a 0,86 e para AP 0,98. Isto significa que estes modelos de regressão prevêm uma boa explicação da relação entre as variáveis independentes (T e C_L) e as respostas (PB e AP), ou seja, os modelos propostos conseguem explicar cerca de 86 e 98%, respectivamente, a variância das respostas. Os resultados referentes a significância dos modelos (ANOVA) para o teor de proteína bruta e o aumento protéico, são apresentados nas Tabelas A3 e A4, Apêndice A.

A Figura 4.42 mostra a influência da temperatura de fermentação e da concentração inicial de leveduras sobre a resposta percentual de proteína bruta. A superfície de respostas foi apresentada para observa-se tendências, pois o modelo para PB não foi estatisticamente significativo ao nível de 95% de confiança.

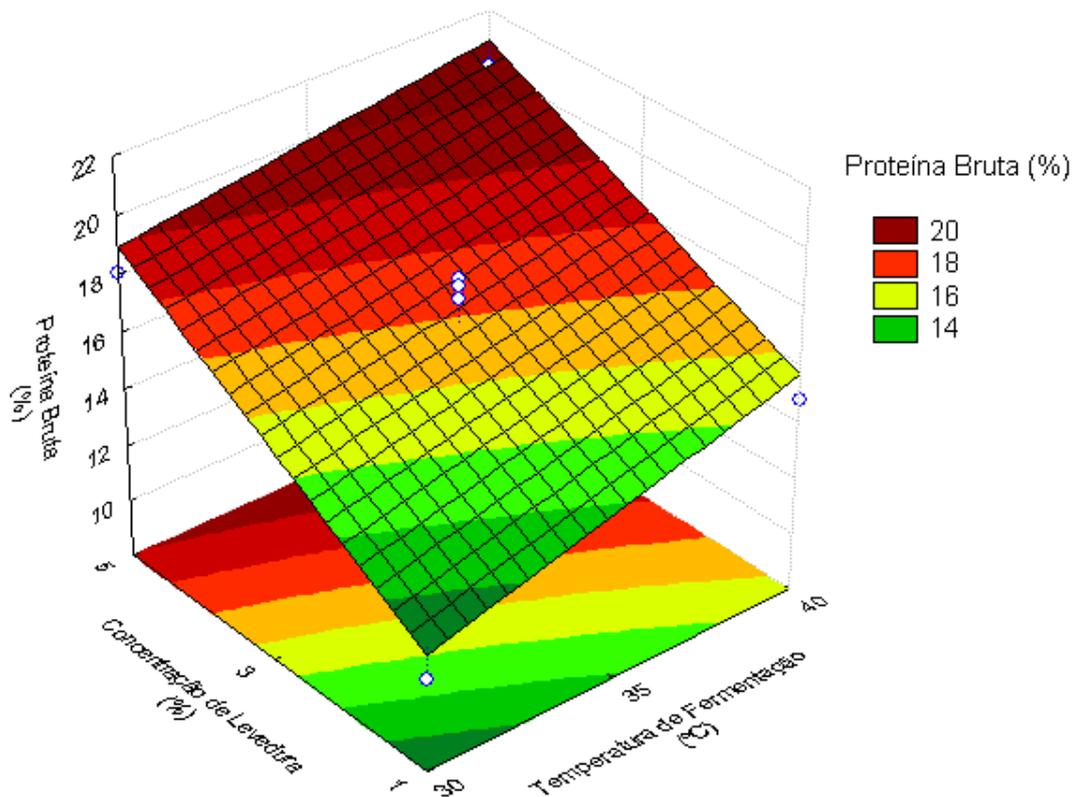


Figura 4.42. Influência das variáveis independentes, temperatura de fermentação e concentração inicial de leveduras, sobre o teor de proteína bruta da palma forrageira.

Observa-se que com a concentração inicial de leveduras acima de 3% em qualquer faixa de temperatura estudada, tem-se um teor de proteína bruta de aproximadamente 20%. A Figura 4.42 mostra que a variável que apresenta maior efeito significativo, influenciando positivamente na resposta proteína bruta, foi a concentração inicial de leveduras.

Neste trabalho preliminar o teor de proteína bruta da palma forrageira enriquecida proteicamente alcançou o valor máximo de 20,95% na base seca. As condições experimentais correspondente a esse valor foi: concentração de levedura 5% e temperatura de fermentação de 40 °C. Araújo (2004), estudando a influência das variáveis, concentração inicial de levedura, temperatura do processo e espessura da camada de substrato, observou comportamento semelhante quando fixou a espessura da camada em 4 cm e variou os níveis das outras duas variáveis. Foi observado que com a

concentração inicial do inóculo acima de 10% e temperatura entre 30 e 40 °C, o teor de proteína bruta foi aproximadamente 25%.

A Figura 4.43 ilustra a superfície de resposta mostrando o efeito das variáveis independentes, temperatura de fermentação e concentração inicial de leveduras sobre a resposta aumento protéico. A superfície de respostas foi apresentada para observa-se tendências, pois o modelo para AP não foi estatisticamente significativo ao nível de 95% de confiança.

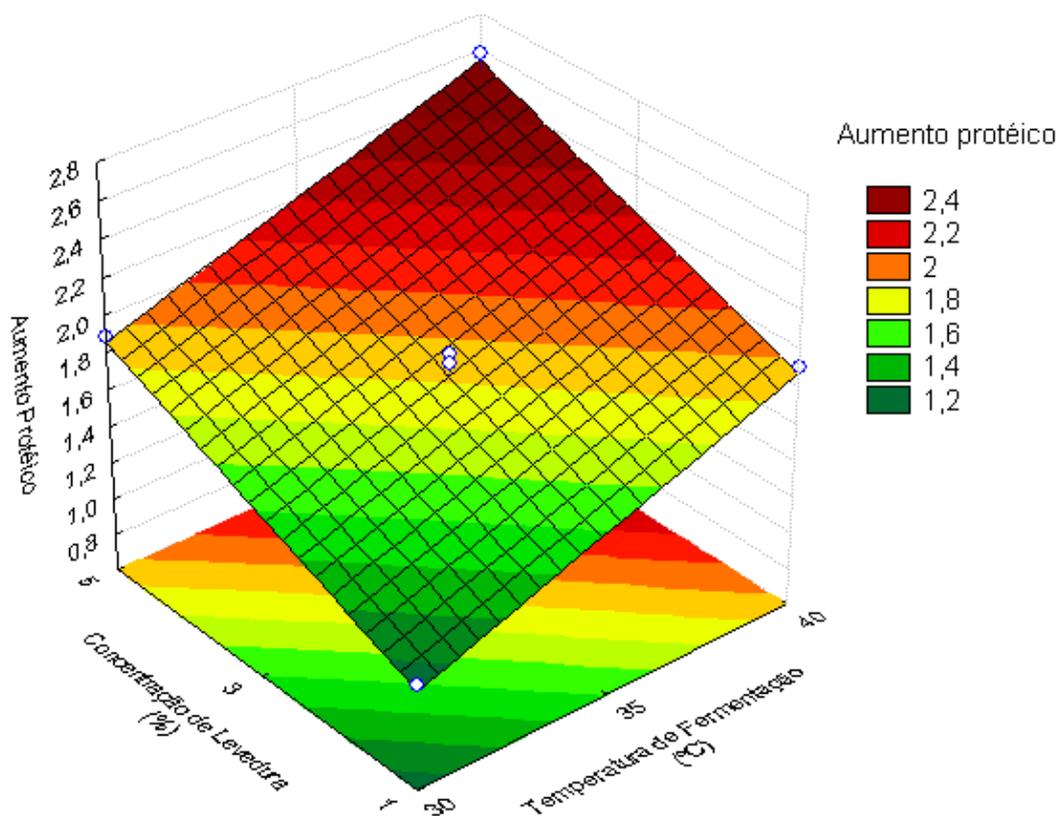


Figura 4.43. Influência das variáveis independentes, concentração inicial de leveduras e temperatura de fermentação, sobre o aumento protéico da palma forrageira.

Foi verificado que as duas variáveis independentes estudadas apresentaram influências significativas sobre o aumento protéico do processo. Valores de temperatura de fermentação fixado em 40 °C e concentração inicial de leveduras de 5% apresentaram valores de aumento protéico de 2,6 vezes.

Araújo (2004) trabalhando em escala de laboratório e fixando a espessura de camada de substrato, nas mesmas temperaturas de fermentação

deste estudo, e concentrações maiores de levedura, encontrou um aumento protéico de 4 vezes, sendo a concentração inicial de levedura a única variável que teve influência significativa sobre a resposta.

Embora o maior aumento protéico alcançado neste estudo preliminar seja menor que o encontrado por Araújo (2004), pode-se dizer que a meta de enriquecer proteicamente a palma forrageira, em maior escala, foi alcançada, uma vez que, o percentual de proteína bruta obtido está dentro das especificações exigidas para uma suplementação protéica na ração animal.

Com relação ao uso de leveduras na alimentação, Butolo (1997) estudando o uso de biomassa de levedura em alimentação animal verificou que a adição de levedura na ração de vacas em lactação está associada com o aumento da eficiência digestiva do animal, tendo como consequência maior porcentagem de proteína e gordura no leite e aumento de sua produção. Essas vantagens também são ressaltadas por Simas (2004) que afirma que o diferencial da palma forrageira fermentada está na qualidade do produto final, ou seja, a carne do animal, que se torna mais rica em proteína e é ingerida pelo homem sem produtos químicos adicionais muito usados pelos produtores.

4.3.2. Estudo do enriquecimento nutricional com a utilização de diferentes biorreatores

Os experimentos anteriores demonstraram que o enriquecimento protéico da palma forrageira em escala ampliada foi bastante promissor. Sendo assim, esta fase do trabalho pretendeu potencializar a produção protéica através da adição de uma fonte suplementar de nitrogênio, uréia. Para tanto a temperatura de fermentação não foi estudada, pois verificou-se influência não significativa no processo nos níveis estudados (30, 35 e 40 °C), confirmado pelos estudos de Araújo (2004). As fermentações foram realizadas em biorreatores bandejas e tambor rotativo a temperatura ambiente ($25 \pm 3^\circ\text{C}$) com as mesmas condições experimentais iniciais.

4.3.2.1. Bandeja

O do perfil cinético da fermentação semi-sólida da palma forrageira, utilizando biorreator bandeja, objetivou o acompanhamento da variação do aumento protéico com o tempo de fermentação, no intuito de determinar o tempo no qual foi conseguido o maior teor de proteína bruta na palma forrageira fermentada.

As Tabelas 4.10 e 4.11 apresentam os valores do percentual de proteína bruta e teores de açúcares redutores totais (ART), expressos na base seca, da palma forrageira durante o processo da fermentação semi-sólida com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, utilizando a bandeja, nos seis experimentos realizados.

Tabela 4.10. Variação da proteína bruta (b.s.) da palma forrageira durante o processo da fermentação semi-sólida, para os seis experimentos realizados, em biorreator bandeja

Tempo (h)	Proteína bruta (%)					
	Exp.1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Exp. 5	Exp. 6
<i>In natura</i>	6,16	6,64	6,92	7,04	6,89	6,51
0	15,03	25,82	13,56	15,28	34,19	35,23
2	18,42	23,62	24,89	16,00	20,42	35,23
4	19,20	31,60	22,71	8,74	44,85	32,11
6	19,59	32,17	25,35	13,10	47,18	38,09
8	20,73	33,41	27,32	25,86	41,21	40,01
10	20,73	35,12	28,61	5,01	30,23	39,82
12	21,96	37,26	32,82	13,39	22,68	33,62
24	7,89	23,15	15,03	7,27	35,18	35,7

Tabela 4.11. Variação do percentual de açúcares redutores totais (b.s.) da palma forrageira durante o processo da fermentação semi-sólida, para os seis experimentos realizados, em biorreator bandeja

Tempo (h)	ART (%)					
	Exp.1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Exp. 5	Exp. 6
<i>In natura</i>	8,01	8,23	10,54	12,98	11,56	10,95
0	5,76	6,31	9,47	12,62	10,56	9,48
2	6,00	3,16	1,03	1,58	7,26	3,16
4	1,03	1,03	7,26	9,47	7,89	10,62
6	12,31	6,31	6,31	4,73	6,31	5,68
8	7,26	6,95	4,73	6,31	9,47	10,63
10	9,47	9,47	6,31	1,58	1,32	1,63
12	1,8	1,95	1,32	1,63	1,32	1,32
24	1,63	1,32	1,64	1,63	1,31	1,32

Os comportamentos do teor de ART e PB ao longo das fermentações semi-sólidas no processo de enriquecimento nutricional da palma forrageira estão representados graficamente nas Figuras 4.44, 4.45, 4.46, 4.47, 4.48 e 4.49 para uma melhor visualização desses valores.

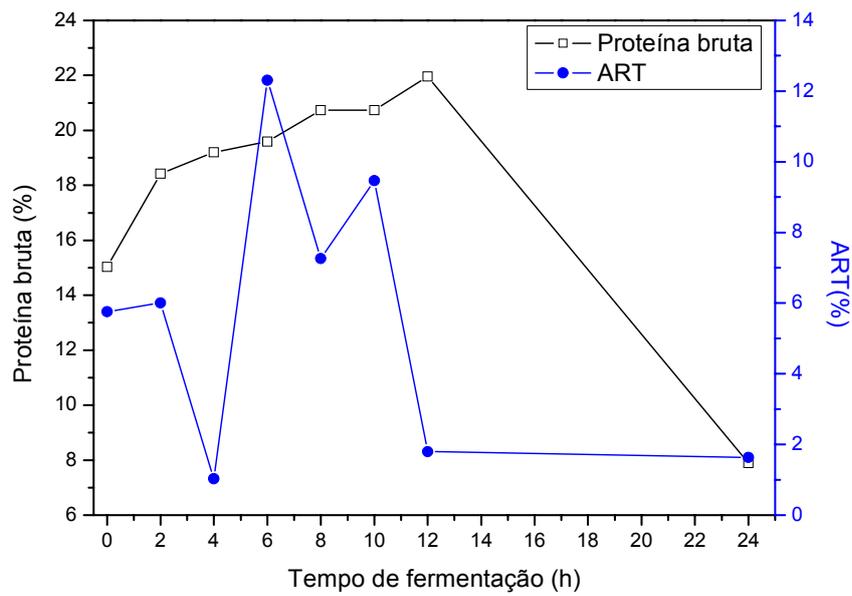


Figura 4.44. Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares redutores totais durante a FSS da palma forrageira em bandeja. Experimento 1.

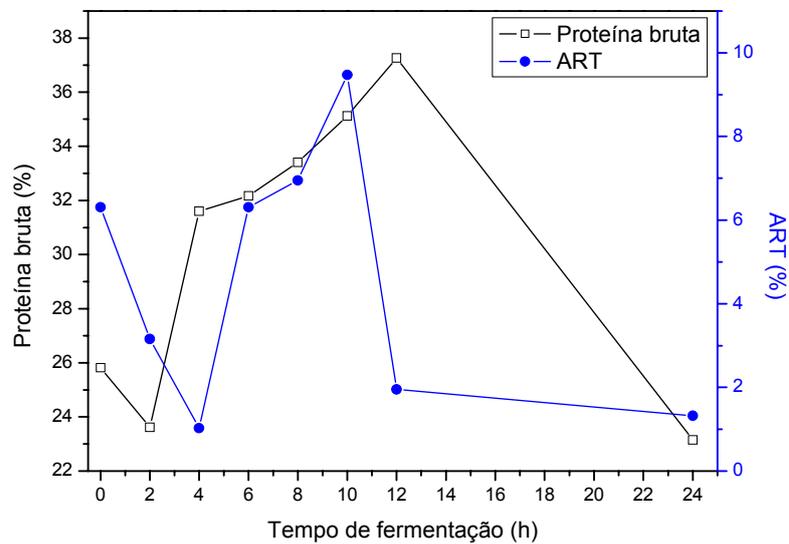


Figura 4.45. Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares redutores totais durante a FSS da palma forrageira em bandeja. Experimento 2.

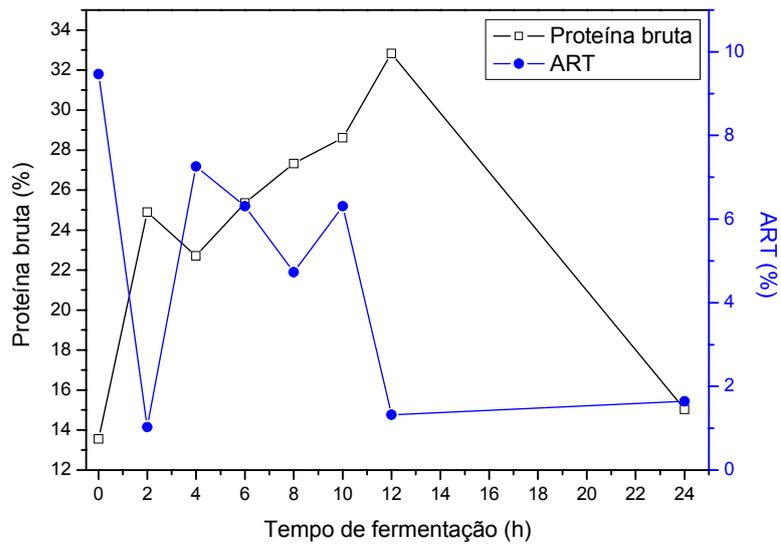


Figura 4.46. Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares redutores totais durante a FSS da palma forrageira em bandeja. Experimento 3.

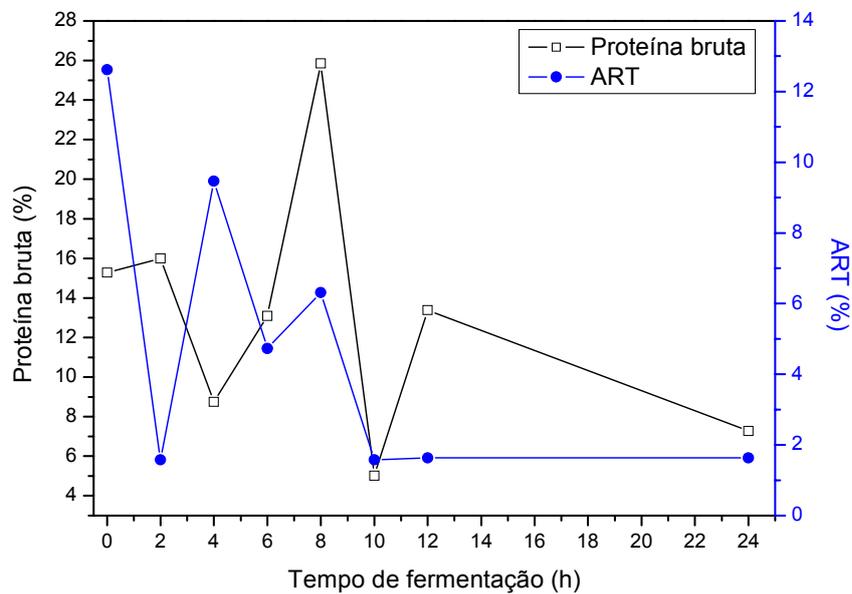


Figura 4.47. Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares redutores totais durante a FSS da palma forrageira em bandeja. Experimento 4.

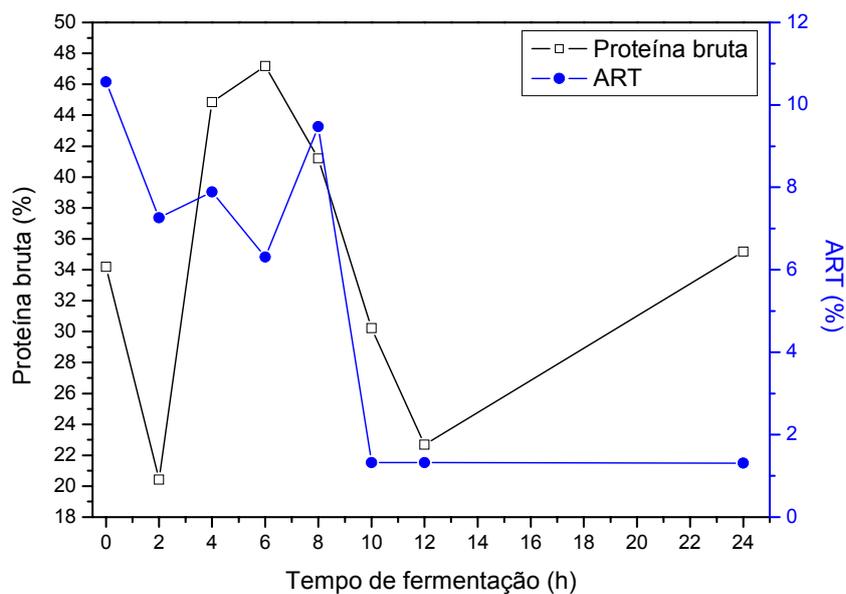


Figura 4.48. Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares redutores totais durante a FSS da palma forrageira em bandeja. Experimento 5.

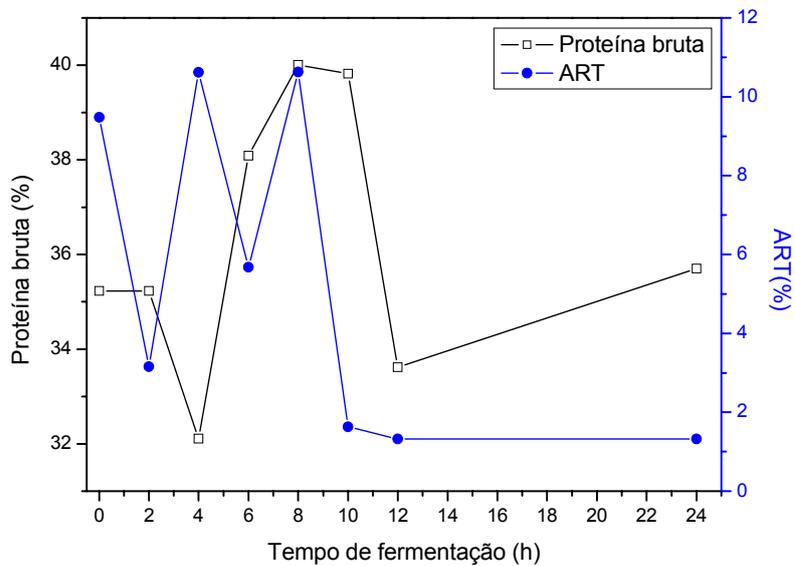


Figura 4.49. Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares redutores totais durante a FSS da palma forrageira em bandeja. Experimento 6.

Os dados apresentados na Tabela 4.10 mostram que no experimento 1, ao qual se adicionou 5% de levedura, observou-se que o tempo em que foi

obtido o maior aumento protéico foi após 12 h de fermentação. No experimento 2 foram adicionados 5% de levedura e 10% de uréia e o maior aumento protéico foi alcançado também com 12 h de fermentação. No experimento 3 foi adicionado 1% de levedura e 10% de uréia e da mesma forma que os experimento 1 e 2, após 8 h de fermentação foi encontrado o máximo aumento protéico. Experimento 4 estudou-se a fermentação utilizando-se apenas 1% de concentração de levedura, o maior incremento protéico foi alcançado após 8 h de processo. Experimentos 5 e 6 que tiveram as mesmas condições iniciais (3% de levedura e 5% de uréia) alcançaram o máximo aumento protéico em tempos diferentes, no entanto bem próximos, 6 e 8 h de fermentação, respectivamente.

Comparando-se os resultados destas fermentações com as fermentações realizadas nos testes preliminares nota-se uma redução no tempo em que conseguiu-se os maiores teores protéicos. Deve-se notar que os tempos em que foram realizadas as coletas de amostras foram diferentes e isso deve ter influenciado positivamente nas fermentações onde foram retiradas amostras a cada 2 h. Para a retirada das amostras todo o substrato era homogeneizado, com o auxílio de uma colher de pau, o que provavelmente ajudou na aeração do meio, condição muito importante no crescimento das leveduras. Outro fato que merece ser destacado é o uso da estufa com circulação de ar forçado para o controle da temperatura nas fermentações semi-sólidas realizadas nos testes preliminares. A adição de uréia ao substrato, fonte de nitrogênio, catalisou o metabolismo da levedura.

Com relação aos perfis dos teores de açúcares redutores totais durante as 24 h de fermentação buscou-se estudar uma tendência desses comportamentos, uma vez que os resultados apresentados variaram muito ao longo do tempo e não apresentou um perfil uniforme e contínuo. Em todos os experimentos observa-se uma redução do ART apresentado pelas amostras *in natura* em relação às amostras do tempo 0 (zero), logo após a adição da levedura e da uréia.

Nos experimentos 1, 2 e 3 após 12 h de fermentação houve um acentuado decréscimo no percentual de ART. Nos experimentos 4, 5 e 6 esse decréscimo ocorre a partir de 10 h de fermentação. Em todos os experimentos realizados os teores de ART encontrados após 24 h de fermentação são

sempre muito inferiores aos encontrados no tempo 0, tempo em que inicializou-se a fermentação. Esse comportamento pode ser justificado pelo consumo dos açúcares redutores totais pela levedura para utilização em seu metabolismo.

Comparando-se o teor de ART das amostras *in natura* com o menor valor de ART encontrado durante as fermentações verificou-se um consumo de aproximadamente 88%. Correia (2004) observou o comportamento de ART no estudo do enriquecimento protéico de resíduos de abacaxi com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e, verificou-se que após 24 h de fermentação, os açúcares já tinham sido consumidos quase que completamente, apresentando apenas um teor residual de 10% no final da fermentação.

Almeida (2007) estudou o perfil do teor de ART e do PB ao longo de 72 h de fermentação semi-sólida no processo de enriquecimento protéico do mandacaru com o *Aspergillus niger*. Nesse estudo observou-se que nas primeiras 32 h de fermentação houve uma ligeira queda no teor de ART, seguido de um consumo mais acentuado até 72 h. O consumo total de ART foi de 50,8% ao longo do processo.

Objetivando estudar o aumento protéico da palma forrageira fermentada, ou seja, qual foi o incremento real no teor de proteína bruta obtido pela palma forrageira durante o processo de fermentação semi-sólida, calculou-se a razão entre o valor protéico da palma enriquecida, em determinados tempos e o valor de proteína bruta da palma na forma *in natura*, conforme Equação 3.5. Estes valores são apresentados na Tabela 4.12, em destaque o maior aumento protéico alcançado em cada experimento, associado ao tempo de fermentação.

Tabela 4.12. Aumento protéico da palma forrageira durante o processo da fermentação semi-sólida, para os seis experimentos realizados em biorreator bandeja

Tempo (h)	Aumento protéico					
	Exp.1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Exp. 5	Exp. 6
0	2,44	3,89	1,96	2,17	4,96	5,41
2	2,99	3,56	3,60	2,27	2,96	5,41
4	3,12	4,76	3,28	1,24	6,51	4,93
6	3,18	4,85	3,66	1,86	6,85	5,85
8	3,36	5,04	3,95	3,67	5,98	6,14
10	3,36	5,29	4,13	0,71	4,39	6,12
12	3,56	5,62	4,74	1,90	3,30	5,16
24	1,28	3,49	2,17	1,03	5,10	5,48

Relacionando os valores encontrados nas Tabelas 4.10 e 4.12, verifica-se que o experimento 1 obteve um percentual máximo de proteína bruta de aproximadamente 22%, o que corresponde a um aumento protéico de 3,56 vezes, esse aumento foi conseguido após 12 h de fermentação. O aumento protéico alcançado no experimento 2, após 12 h de processo, foi de 5,62 vezes. O teor de proteína bruta da palma neste experimento aumentou de 6,64 para 37,26%. Experimento 3 o maior teor protéico encontrado foi de 32,82%, que correspondeu a um incremento de 4,74 vezes, para o tempo de 12 h. Após 8 horas de fermentação o substrato do experimento 4 obteve um aumento de 3,67 vezes, aumentando a proteína bruta de 7,04 para 25,86%. Experimentos 5 e 6 alcançaram um aumento protéico de 6,85 e 6,14 vezes, respectivamente, obtendo-se valores de proteína bruta acima de 40%.

Araújo (2004), estudando a influência das variáveis, concentração inicial de levedura, temperatura do processo e espessura da camada de substrato, observou que com a concentração inicial de levedura acima de 10% e temperatura entre 30 e 40 °C, o teor de proteína bruta foi aproximadamente 25%.

Considerando que esta pesquisa objetiva a ampliação do processo de enriquecimento protéico da palma forrageira estudado por Araújo (2004), torna-se viável a redução da concentração inicial de leveduras utilizadas no processo, pois essa condição permitirá maior possibilidade de realização dos experimentos em campo, o que poderá reduzir acentuadamente o custo de produção.

Almeida (2007) estudou a cinética do enriquecimento protéico do mandacaru através da fermentação semi-sólida com a levedura *saccharomyces cerevisiae*, em bandejas. Após 32 h de fermentação o mandacaru atingiu um teor protéico máximo de 27,67%.

Perazzo Neto (1999) utilizou o microrganismo *Aspergillus niger* associado a 0,5% de fonte de nitrogênio no enriquecimento protéico da palma forrageira e obteve resultado de 21,36% de proteína bruta. O valor máximo de proteína bruta alcançado por Carvalho (1999), que também estudou o enriquecimento protéico desta cactácea foi em torno de 24%, utilizando o microrganismo *Fusarium* e uréia e, de 34,6% quando utilizou *Aspergillus niger* e uréia. O mesmo autor também utilizou os mesmos microrganismos, sem adição de fonte de nitrogênio e obteve valores em torno de 5% de proteína bruta, para ambos os microrganismos, o que inviabilizou a utilização desses fungos sem aplicação de uréia para o enriquecimento protéico da palma forrageira.

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

Estes estudos juntamente com os testes preliminares mostraram que o enriquecimento da palma por fermentação semi-sólida também pode ser feito sem a adição de uréia. Vale ressaltar que se utilizando a fonte de nitrogênio os teores protéicos alcançados foram superiores. No entanto em ambas as situações os teores protéicos encontrados estão de acordo com NRC (1989).

4.3.2.2. Tambor rotativo

O estudo cinético da fermentação semi-sólida da palma forrageira, utilizando biorreator tambor rotativo, objetivou o acompanhamento da variação do aumento protéico com o tempo de fermentação, no intuito de determinar o tempo no qual foi conseguido o maior teor de proteína bruta na palma forrageira fermentada.

As Tabelas 4.13 e 4.14 apresentam os valores do percentual de proteína bruta e teores de açúcares redutores totais (ART), expressos na base seca, da palma forrageira durante o processo da fermentação semi-sólida com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, utilizando o tambor rotativo, nos seis experimentos realizados.

Tabela 4.13. Variação da proteína bruta (b.s.) da palma forrageira durante o processo da fermentação semi-sólida, para os seis experimentos realizados em biorreator tambor rotativo

Tempo (h)	Proteína bruta (%)					
	Exp.1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Exp. 5	Exp. 6
<i>In natura</i>	7,16	6,64	6,92	7,04	6,89	6,51
0	25,63	25,64	39,08	12,86	15,08	11,15
2	30,91	19,04	28,93	11,03	12,44	11,39
4	8,48	36,19	36,22	12,49	45,43	41,12
6	7,16	46,75	34,66	9,92	13,76	10,66
8	25,64	37,51	45,34	32,23	13,76	11,03
10	37,51	21,68	30,87	7,97	33,55	30,12
12	8,48	20,36	35,7	14,08	32,23	30,56
24	32,23	37,51	39,49	9,8	37,15	32,23

Tabela 4.14. Variação do percentual de açúcares redutores totais (b.s.) da palma forrageira durante o processo da fermentação semi-sólida, para os seis experimentos realizados em biorreator tambor rotativo

Tempo (h)	ART (%)					
	Exp.1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Exp. 5	Exp. 6
<i>In natura</i>	8,78	8,92	7,63	6,54	11,69	8,51
0	5,26	6,57	5,8	5,78	10,83	7,26
2	2,63	5,26	1,26	3,18	4,63	4,07
4	2,63	2,10	1,46	3,21	4,63	4,10
6	2,63	3,15	1,60	3,15	4,63	4,32
8	7,89	1,26	1,30	3,13	3,05	4,09
10	2,63	2,10	1,26	3,17	1,05	1,30
12	3,94	2,63	1,26	4,09	1,05	1,28
24	1,31	1,21	1,24	1,21	1,05	1,42

Os comportamentos do teor de ART e PB ao longo das fermentações semi-sólidas no processo de enriquecimento nutricional da palma forrageira estão representados graficamente nas Figuras 4.50, 4.51, 4.52, 4.53, 4.54 e 4.55 para uma melhor visualização desses valores.

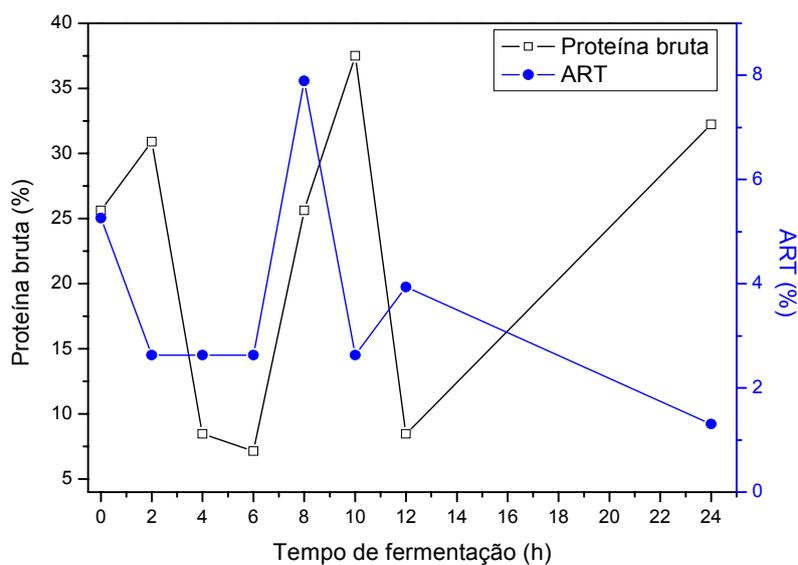


Figura 4.50. Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares redutores totais durante a FSS da palma forrageira em tambor rotativo. Experimento 1.

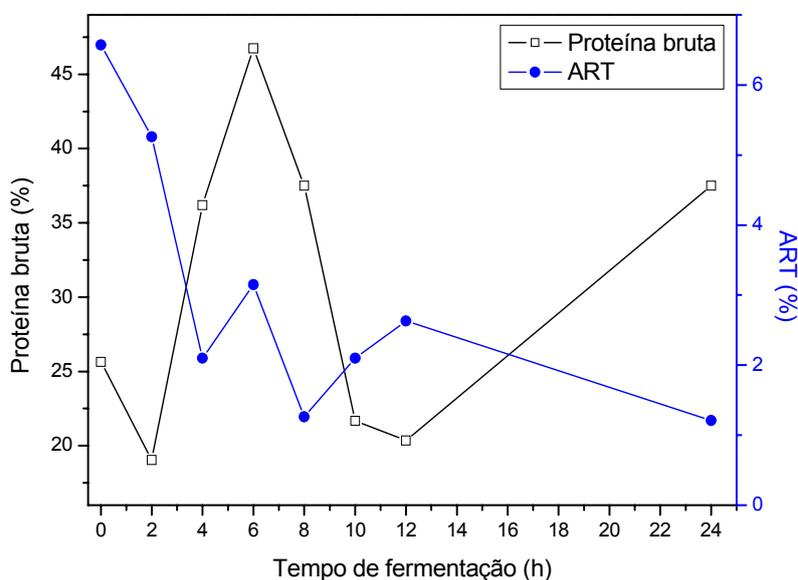


Figura 4.51. Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares redutores totais durante a FSS da palma forrageira em tambor rotativo. Experimento 2.

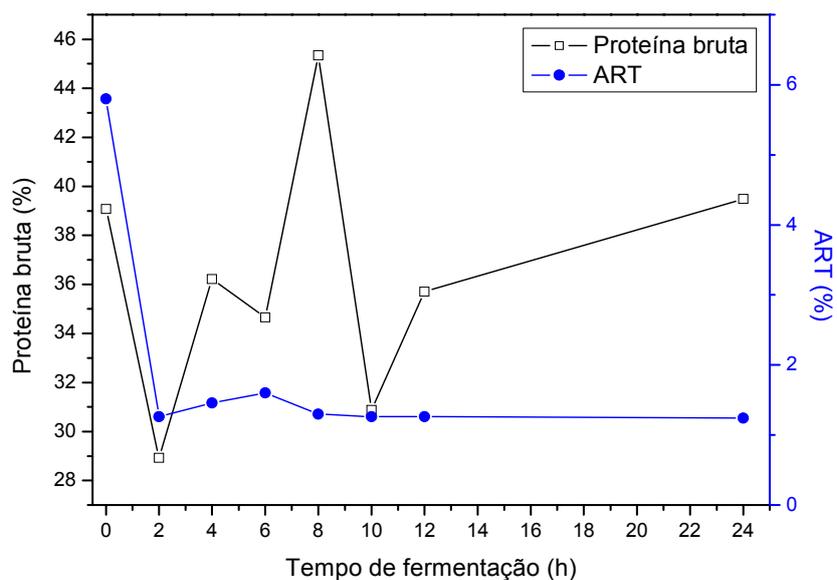


Figura 4.52. Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares redutores totais durante a FSS da palma forrageira em tambor rotativo. Experimento 3.

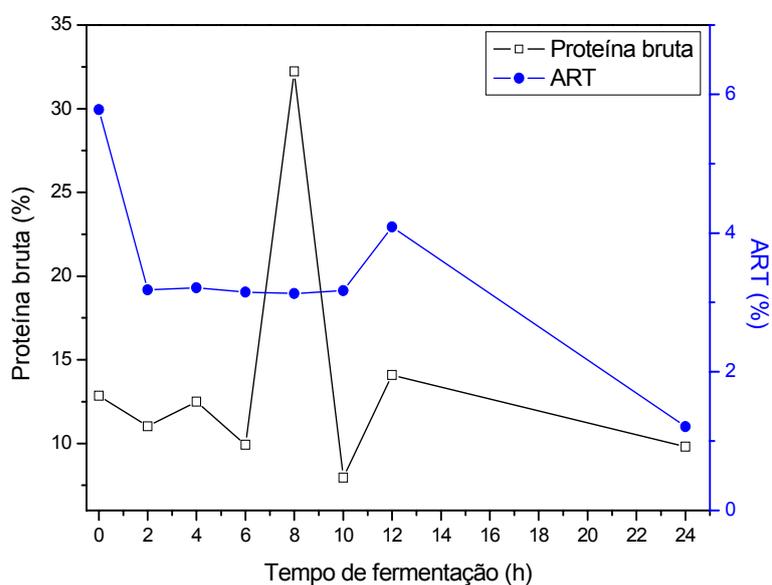


Figura 4.53. Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares redutores totais durante a FSS da palma forrageira em tambor rotativo. Experimento 4.

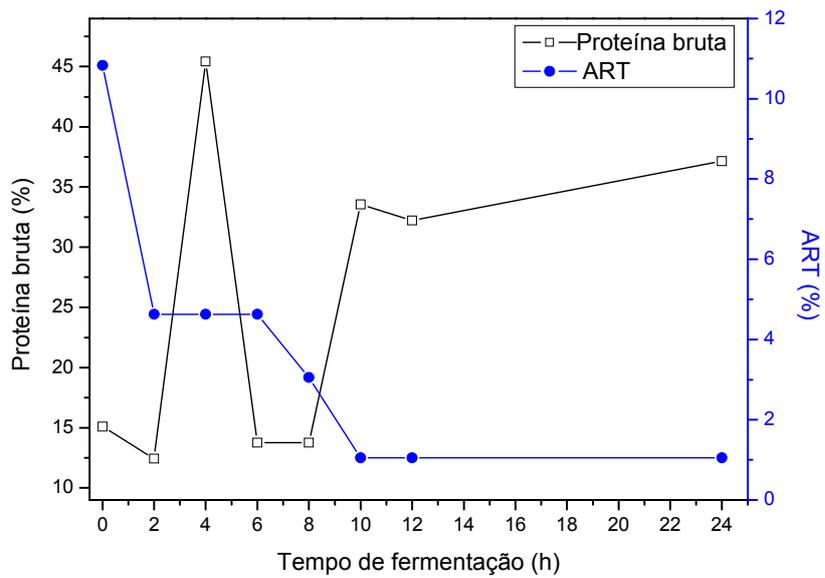


Figura 4.54. Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares redutores totais durante a FSS da palma forrageira em tambor rotativo. Experimento 5.

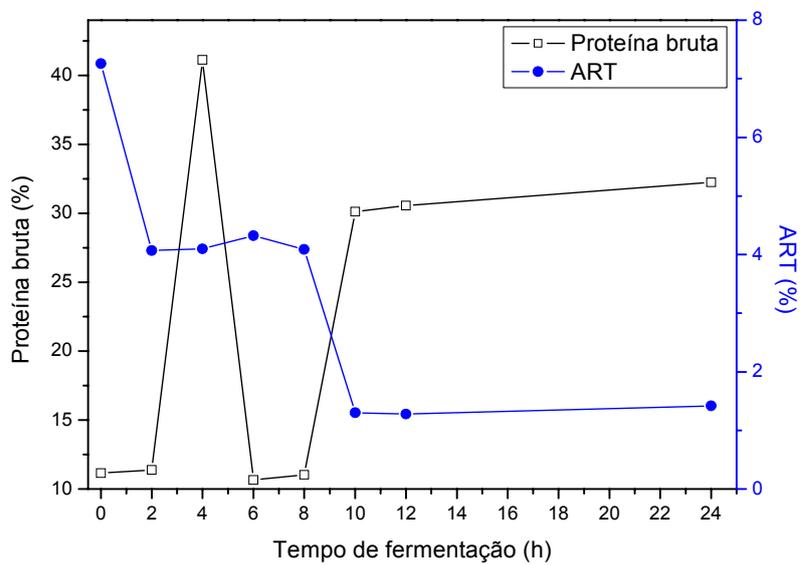


Figura 4.55. Perfil do percentual de proteína bruta e açúcares redutores totais durante a FSS da palma forrageira em tambor rotativo. Experimento 6.

Ao contrário do que foi apresentado para o biorreator bandeja, o perfil do ART durante a FSS da palma forrageira em biorreator tambor rotativo mostrou-se mais uniforme e condizente aos perfis encontrados na literatura. Isso pode estar associado à constante mistura do substrato, ocasionada pela rotação do biorreator.

Excetuando-se o tempo de 8 h no experimento 1, todos os demais percentuais de ART decrescem ao longo do tempo de fermentação, indicando que foram consumidos durante o metabolismo do microrganismo utilizado.

Almeida (2007) descreve o comportamento dos açúcares redutores totais do mandacaru durante fermentação semi-sólida, em temperatura ambiente (25 °C), utilizando o tambor rotativo como biorreator e, tendo como condição inicial concentração de levedura de 5%. Observou-se que 72% do ART presentes no substrato foram consumidos logo na primeira hora de fermentação, mantendo-se praticamente constante até o final da fermentação. O autor justificou tal fato ao consumo dos açúcares pela levedura como fonte de carbono para sua multiplicação transformando-os em CO₂, H₂O e energia.

Objetivando estudar o aumento protéico da palma forrageira fermentada, calculou-se a razão entre o valor protéico da palma enriquecida, em determinados tempos e o valor de proteína bruta da palma na forma *in natura*, conforme Equação 3.5. Estes valores são apresentados na Tabela 4.15, em destaque o maior aumento protéico alcançado em cada experimento, associado ao tempo de fermentação.

Tabela 4.15. Aumento protéico da palma forrageira durante o processo da fermentação semi-sólida, para os seis experimentos realizados em biorreator tambor rotativo

Tempo (h)	Aumento protéico					
	Exp.1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Exp. 5	Exp. 6
0	3,6	3,9	5,6	1,8	2,2	1,7
2	4,3	2,9	4,2	1,6	1,8	1,7
4	1,2	5,5	5,2	1,8	6,6	6,3
6	1,0	7,1	5,0	1,5	2,0	1,6
8	3,6	5,7	6,5	4,6	2,0	1,7
10	5,2	3,3	4,5	1,2	4,9	4,6
12	1,2	3,1	5,1	2,0	4,9	4,7
24	4,5	5,6	5,7	1,4	5,4	4,9

Relacionando os valores encontrados nas Tabelas 4.13 e 4.15, verifica-se que o experimento 1 obteve um percentual máximo de proteína bruta de 37,51%, o que corresponde a um aumento protéico de 5,2 vezes, esse aumento foi conseguido após 10 h de fermentação.

O aumento protéico alcançado no experimento 2, após 6 h de processo, foi de 7,1 vezes. O teor de proteína bruta da palma neste experimento aumentou de 6,65 para 46,75%. Experimento 3 o maior teor protéico encontrado foi de 45,34%, que correspondeu a um incremento de 6,5 vezes, para o tempo de 8 h. Após 8 h de fermentação o substrato do experimento 4 obteve um aumento de 4,6 vezes, aumentando a proteína bruta de 7,04 para 32,23%. Experimentos 5 e 6 alcançaram um aumento protéico de 6,6 e 6,3 vezes, respectivamente, obtendo-se valores de proteína bruta acima de 40%.

Almeida (2007) estudou a cinética do enriquecimento protéico do mandacaru através da fermentação semi-sólida com a levedura *saccharomyces cerevisiae*, no mesmo tambor rotativo utilizado neste estudo. Após 10 h de fermentação o mandacaru atingiu um teor protéico máximo de 23%, que correspondeu a aproximadamente o dobro do teor de proteína bruta do mandacaru *in natura*, sendo o aumento protéico de 1,72 vezes.

O tempo médio encontrado no tambor rotativo para alcançar-se os maiores aumentos protéicos foi reduzido, comparando-se às fermentações realizadas em bandejas. A redução no tempo de fermentação observada ocorreu provavelmente pela maior oxigenação promovida pela agitação do tambor rotativo e ao fenômeno da difusão.

Ainda comparando-se as fermentações realizadas em bandejas e tambor rotativo percebe que os teores de proteína bruta e correspondentes aumentos protéicos alcançados nas fermentações no tambor rotativo foram superiores, relacionando-os com os determinados tempos de fermentação. Apenas os experimentos realizados com as condições centrais do planejamento, experimentos 5 e 6 (Figuras 4.48 e 4.49, para bandeja e, 4.54 e 4.55, para tambor rotativo) obtiveram aumentos protéicos bem próximos.

Um dos objetivos almejados neste trabalho é o uso de materiais e metodologias simples para o processo do enriquecimento nutricional da palma forrageira, para que o mesmo possa ser aplicado no campo pelos próprios produtores rurais. Uma das vantagens apresentadas pela utilização do biorreator bandeja (plástico) deve-se ao seu menor custo e fácil aquisição dos mesmos.

4.3.2.3. Planejamento fatorial para o estudo do enriquecimento protéico com diferentes biorreatores

A seguir será apresentado separadamente o estudo das influências das variáveis independentes, assim como os modelos de ajuste de 1ª ordem para as respostas, em tempos determinados, para cada biorreator utilizado.

4.3.2.3.1. Planejamento fatorial para o estudo do enriquecimento protéico utilizando o biorreator bandeja

As Tabelas 4.16 e 4.17 apresentam os modelos de ajuste de 1ª ordem com os respectivos coeficientes de determinação (R^2) para os diferentes tempos de fermentação estudados, utilizando-se o biorreator bandeja. O teor de proteína bruta (PB) e o aumento protéico (AP) foram expressos em função

das variáveis independentes pelo modelo matemático de 1ª ordem. Os coeficientes do modelo que tiveram efeitos significativos na resposta, ao nível de 90% de confiança são destacados em negrito.

Tabela 4.16. Modelos de regressão linear para a proteína bruta, nos diferentes tempos de fermentação. Biorreator bandeja

Tempo (h)	Modelo empírico codificado	R ²
2	PB = 23,01 + 0,29 C _L + 3,52 C _{FN} - 0,92 C _L .C _{FN}	23,19
4	PB = 26,53 + 4,84 C _L + 6,59 C _{FN} - 0,39 C _L .C _{FN}	34,49
6	PB = 29,25 + 3,33 C _L + 6,21 C _{FN} + 0,08 C _L .C _{FN}	25,52
8	PB = 31,42 + 0,24 C _L + 3,53 C _{FN} + 2,80 C _L .C _{FN}	24,34
10	PB = 26,59 + 5,56 C _L + 9,50 C _{FN} - 2,30 C _L .C _{FN}	66,07
12	PB = 26,98 + 3,25 C _L + 8,68 C _{FN} - 1,03 C _L .C _{FN}	84,46
24	PB = 20,70 + 2,18 C _L + 5,75 C _{FN} + 1,87 C _L .C _{FN}	20,27

C_{FN}: Concentração de levedura

C_L: Concentração de fonte de nitrogênio

Tabela 4.17. Modelos de regressão linear para o aumento protéico, nos diferentes tempos de fermentação. Biorreator bandeja

Tempo (h)	Modelo empírico codificado	R ²
2	AP = 3,46 + 0,17 C _L + 0,47 C _{FN} - 0,19 C _L .C _{FN}	20,33
4	AP = 3,97 + 0,84 C _L + 0,92 C _{FN} - 0,10 C _L .C _{FN}	37,53
6	AP = 4,37 + 0,63 C _L + 0,87 C _{FN} - 0,03 C _L .C _{FN}	27,33
8	AP = 4,69 + 0,19 C _L + 0,49 C _{FN} + 0,35 C _L .C _{FN}	22,12
10	AP = 4,00 + 0,95 C _L + 1,34 C _{FN} - 0,37 C _L .C _{FN}	64,57
12	AP = 4,05 + 0,63 C _L + 1,22 C _{FN} - 0,19 C _L .C _{FN}	80,93
24	AP = 3,09 + 0,39 C _L + 0,84 C _{FN} + 0,27 C _L .C _{FN}	20,29

C_{FN}: Concentração de levedura

C_L: Concentração de fonte de nitrogênio

Observando-se as Tabelas 4.16 e 4.17, verifica-se que os valores dos coeficientes de determinação (R^2) para a maioria dos modelos apresentados foram baixo, ou seja, os modelos de regressão não prevêem satisfatoriamente a relação entre as variáveis independentes (C_L e C_{FN}) e as respostas (PB e AP), para um nível de confiança de 90%. Como os modelos lineares não se ajustaram bem aos dados experimentais, realizou-se o teste da curvatura ao modelo com o objetivo de verificar se o ajuste do modelo é quadrático.

As Tabelas 4.18 e 4.19 apresentam os modelos de ajuste com curvatura com os correspondentes coeficientes de determinação, bem como a razão F_{cal}/F_{tab} , para cada tempo estudado para as respostas PB e AP, respectivamente. Os coeficientes do modelo que tiveram efeitos significativos na resposta, ao nível de 90% de confiança são destacados em negrito.

Tabela 4.18. Modelos com curvatura para proteína bruta, nos diferentes tempos de fermentação. Biorreator bandeja

Tempo (h)	Modelo empírico codificado	R^2	F_{cal}/F_{tab}
2	PB = 20,73 + 7,09 Curv + 0,29 C_L + 3,52 C_{FN} - 0,92 $C_L \cdot C_{FN}$	52,34	0,005
4	PB = 20,56 + 17,92 Curv + 4,84 C_L + 6,59 C_{FN} - 0,39 $C_L \cdot C_{FN}$	89,56	0,04
6	PB = 22,55 + 20,08 Curv + 3,33 C_L + 6,21 C_{FN} + 0,08 $C_L \cdot C_{FN}$	94,69	0,08
8	PB = 26,83 + 13,78 Curv + 0,24 C_L + 3,53 C_{FN} + 2,80 $C_L \cdot C_{FN}$	99,78	2,08
10	PB = 22,37 + 12,66 Curv + 5,56 C_L + 9,50 C_{FN} - 2,30 $C_L \cdot C_{FN}$	93,99	0,07
12	PB = 26,36 + 1,80 Curv + 3,25 C_L + 8,68 C_{FN} - 1,03 $C_L \cdot C_{FN}$	85,48	0,03
24	PB = 13,33 + 22,10 Curv + 2,18 C_L + 5,75 C_{FN} + 1,87 $C_L \cdot C_{FN}$	99,98	27,06

Curv: Curvatura

Tabela 4.19. Modelos com curvatura para aumento protéico, nos diferentes tempos de fermentação. Biorreator bandeja

Tempo (h)	Modelo empírico codificado	R ²	F _{cal} /F _{tab}
2	AP = 3,10 + 1,08 Curv. + 0,17 C _L + 0,47 C _{FN} - 0,19 C _L .C _{FN}	47,52	0,004
4	AP = 3,10 + 2,62 Curv. + 0,84 C _L + 0,92 C _{FN} - 0,10 C _L .C _{FN}	92,50	0,05
6	AP = 3,39 + 2,96 Curv. + 0,63 C _L + 0,87 C _{FN} - 0,03 C _L .C _{FN}	97,02	0,14
8	AP = 4,00 + 2,05 Curv. + 0,19 C _L + 0,49 C _{FN} + 0,35 C _L .C _{FN}	99,82	2,49
10	AP = 3,37 + 1,88 Curv. + 0,95 C _L + 1,34 C _{FN} - 0,37 C _L .C _{FN}	91,48	0,05
12	AP = 3,95 + 0,27 Curv. + 0,63 C _L + 1,22 C _{FN} - 0,19 C _L .C _{FN}	81,98	0,02
24	AP = 1,99 + 3,30 Curv. + 0,39 C _L + 0,84 C _{FN} + 0,27 C _L .C _{FN}	99,60	1,16

Curv: Curvatura

Os modelos matemáticos de ajuste com curvatura apresentados, apenas indicam tendências de comportamento entre as respostas e as variáveis estudadas. Para uma melhor explicação da relação entre as variáveis seria mais adequado aumentar os níveis axiais das variáveis de entrada.

Mediante as Tabelas 4.18 e 4.19 observa-se que os coeficientes de determinação obtidos para os modelos com curvatura foram mais altos que os apresentados pelo modelo linear, nos respectivos tempos de fermentação. Na Tabela 4.18 constata-se que os modelos que descrevem a relação entre as variáveis independentes e a proteína bruta nos tempo de 8 e 24 h de fermentação apresentaram a razão F_{cal}/F_{tab} maior que 1 sendo, portanto estatisticamente significativos (Barros Neto *et al.*, 1995). Para a resposta aumento protéico, os modelos com curvatura para os tempos de 8 e 24 h também foram estatisticamente significativos (Tabela 4.19).

Os resultados da análise de variância, ANOVA, para o teor de proteína bruta e o aumento protéico nos tempos em que os modelos com curvatura foram estatisticamente significativos, ao nível de 90% de confiança estão apresentados nas Tabelas A5, A6, A7 e A8, Apêndice A.

O diagrama de Pareto apresenta graficamente os efeitos significativos ao nível de confiança utilizado. Os valores que ultrapassam o valor de “p” são considerados estatisticamente significativos. As Figuras 4.56 e 4.57

representam os gráficos de Pareto para o teor de proteína bruta e aumento protéico, respectivamente, no tempo de 8 h de fermentação, com nível de confiança de 90%. No Gráfico representado pela Figura 4.56, verifica-se que a concentração da fonte de nitrogênio bem como sua interação com a concentração de levedura influenciaram na resposta proteína bruta. Na Figura 4.57, observa-se que apenas a concentração de fonte de nitrogênio teve efeito significativo sobre o aumento protéico alcançado durante o processo.

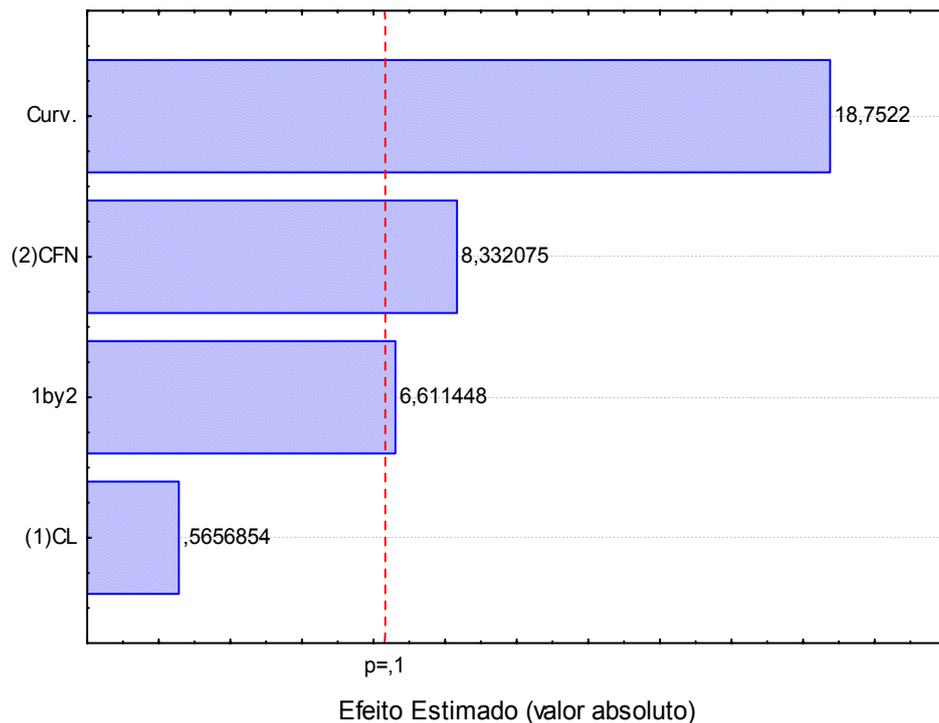


Figura 4.56. Gráfico de Pareto para o percentual de proteína bruta, após 8 h de fermentação em biorreator bandeja.

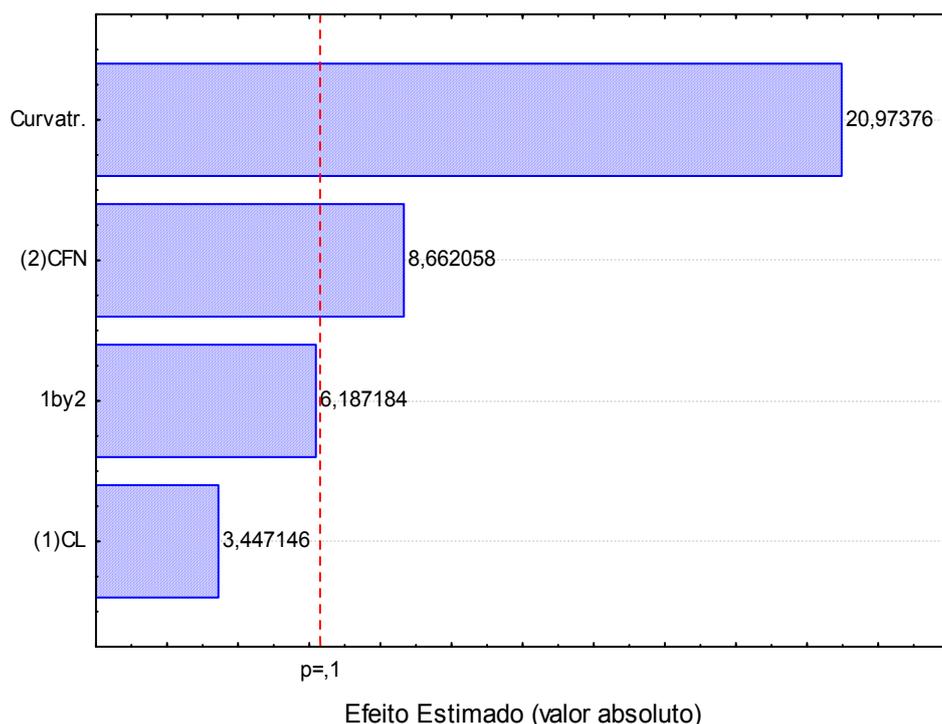


Figura 4.57. Gráfico de Pareto para o aumento protéico, após 8 h de fermentação em biorreator bandeja.

De acordo com os valores experimentais de proteína bruta e aumento protéico apresentados na Tabela 4.10 e 4.12, respectivamente, verificou-se que os experimentos 5 e 6 obtiveram os maiores resultados de PB e AP. Os experimentos 5 e 6 representam os ensaios realizados no ponto central da matriz do planejamento. Substituindo-se as condições experimentais codificadas (nível 0) destes ensaios nos modelos matemáticos propostos para cada tempo de fermentação (Tabela 4.16 e 4.17), verifica-se que o tempo de 8 h é o que corresponde aos maiores valores alcançados das duas respostas estudadas.

Não serão apresentadas as superfícies de respostas para o estudo da influência da concentração de levedura e da concentração de fonte de nitrogênio sobre o teor de proteína bruta e aumento protéico, após 8 h de fermentação em biorreator bandeja, por que os modelos não são estatisticamente significativos, ao nível de 90% de confiança.

A Figura 4.58 (A e B) apresenta o gráfico dos valores de proteína bruta observados experimentalmente versus valores preditos pelo modelo matemático linear sem curvatura (A) e com curvatura (B) no tempo de 8 h.

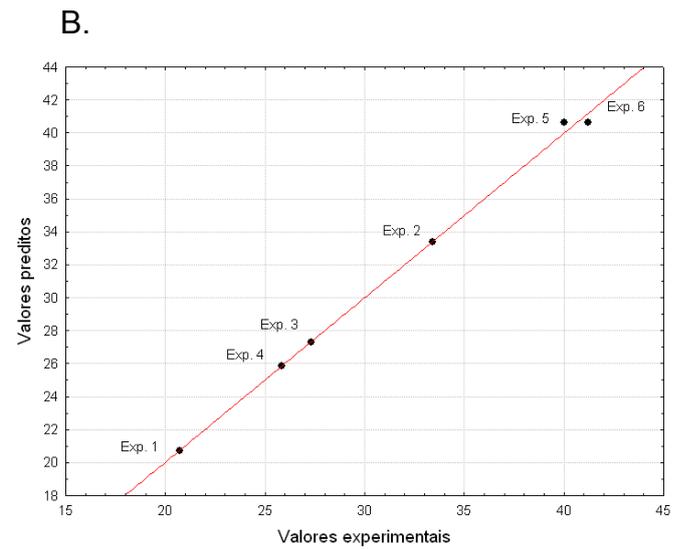
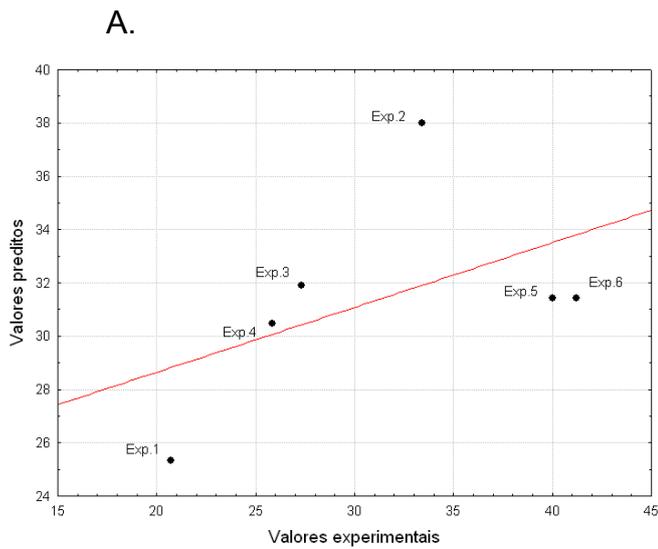


Figura 4.58. Valores de proteína bruta observados experimentalmente versus valores preditos pelo modelo matemático linear sem curvatura (A) e com curvatura (B), no tempo de 8 h.

A Figura 4.59 (A e B) apresenta o gráfico dos valores dos aumentos protéicos observados experimentalmente versus valores preditos pelo modelo matemático linear sem curvatura (A) e com curvatura (B) no tempo de 8 h.

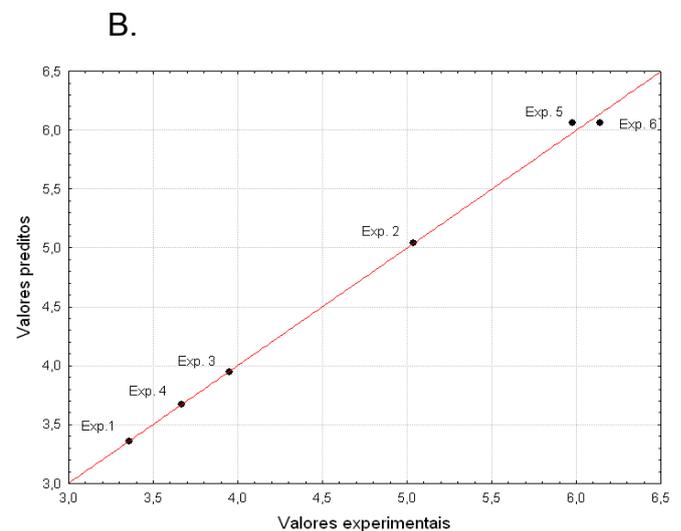
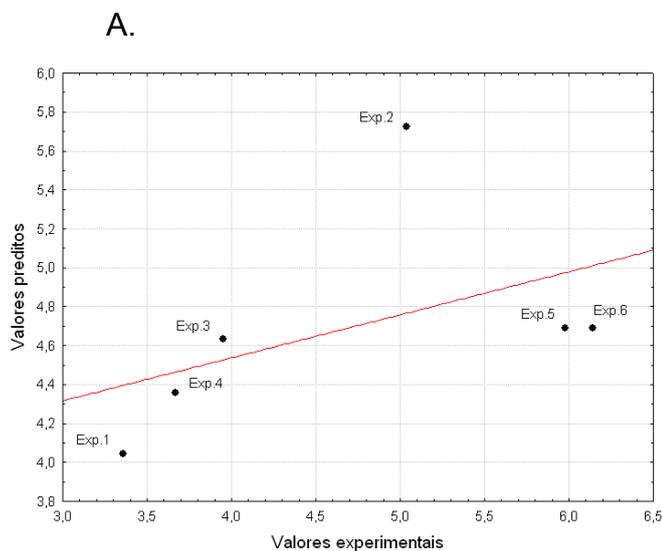


Figura 4.59. Valores de aumentos protéicos observados experimentalmente versus valores preditos pelo modelo matemático linear sem curvatura (A) e com curvatura (B), no tempo de 8 h.

Observando as Figura 4.58 (A e B) e 4.58 (A e B) verifica-se que os experimentos 5 e 6 obtiveram os maiores resultados de PB e AP sendo suas condições experimentais iniciais de: 3% de concentração de levedura e 5% de concentração de uréia.

4.3.2.3.2. Planejamento fatorial para o estudo do enriquecimento protéico utilizando o biorreator tambor rotativo

As Tabelas 4.20 e 4.21 apresentam os modelos de ajuste linear com os respectivos coeficientes de determinação (R^2) para os diferentes tempos de fermentação estudados, utilizando-se o biorreator tambor rotativo. O teor de proteína bruta (PB) e o aumento protéico (AP) foram expressos em função das variáveis independentes pelo modelo matemático de 1ª ordem. Os coeficientes do modelo que tiveram efeitos significativos na resposta, ao nível de 90% de confiança foram destacados.

Tabela 4.20. Modelos de regressão linear para a proteína bruta, nos diferentes tempos de fermentação. Biorreator tambor rotativo

Tempo (h)	Modelo empírico codificado	R^2
2	PB = 18,96 + 2,50 C_L + 1,51 C_{FN} - 7,44 $C_L \cdot C_{FN}$	63,13
4	PB = 29,99 - 1,01 C_L + 12,86 C_{FN} + 0,99 $C_L \cdot C_{FN}$	55,41
6	PB = 20,48 + 2,33 C_L + 16,08 C_{FN} + 3,71 $C_L \cdot C_{FN}$	84,09
8	PB = 27,58 - 3,60 C_L + 6,24 C_{FN} - 0,31 $C_L \cdot C_{FN}$	23,04
10	PB = 26,95 + 5,09 C_L + 1,77 C_{FN} - 9,68 $C_L \cdot C_{FN}$	86,34
12	PB = 23,57 - 5,24 C_L + 8,38 C_{FN} - 2,44 $C_L \cdot C_{FN}$	69,09
24	PB = 31,40 + 5,11 C_L + 8,74 C_{FN} - 6,10 $C_L \cdot C_{FN}$	92,62

C_{FN} : Concentração de levedura

C_L : Concentração de fonte de nitrogênio

Tabela 4.21. Modelos de regressão linear para o aumento protéico, nos diferentes tempos de fermentação. Biorreator tambor rotativo

Tempo (h)	Modelo empírico codificado	R ²
2	AP = 2,75 + 0,35 C _L + 0,30 C _{FN} - 1,00 C _L .C _{FN}	61,74
4	AP = 4,43 - 0,075 C _L + 1,92 C _{FN} + 0,22 C _L .C _{FN}	55,13
6	AP = 3,03 + 0,40 C _L + 2,40 C _{FN} + 0,65 C _L .C _{FN}	84,53
8	AP = 4,02 - 0,45 C _L + 1,00 C _{FN} + 0,05 C _L .C _{FN}	25,44
10	AP = 3,95 + 0,70 C _L + 0,35 C _{FN} - 1,30 C _L .C _{FN}	82,42
12	AP = 3,47 - 0,70 C _L + 1,25 C _{FN} - 0,30 C _L .C _{FN}	65,25
24	AP = 4,58 + 0,75 C _L + 1,35 C _{FN} - 0,80 C _L .C _{FN}	91,75

C_{FN}: Concentração de levedura

C_L: Concentração de fonte de nitrogênio

Observando-se as Tabelas 4.20 e 4.21, verifica-se que os valores dos coeficientes de determinação (R²) para a maioria dos modelos apresentados foram baixo, ou seja, os modelos de regressão não prevêm satisfatoriamente a relação entre as variáveis independentes (C_L e C_{FN}) e as respostas (PB e AP), para um nível de confiança de 90%. Como os modelos lineares não se ajustaram bem aos dados experimentais, realizou-se o teste da curvatura ao modelo com o objetivo de verificar se o ajuste do modelo é quadrático.

As Tabelas 4.20 e 4.21 apresentam os modelos de ajuste com curvatura com os correspondentes coeficientes de determinação, bem como a razão F_{cal}/F_{tab} , para cada tempo estudado para as respostas PB e AP, respectivamente. Os coeficientes do modelo que tiveram efeitos significativos na resposta, ao nível de 90% de confiança são destacados em negrito.

Tabela 4.22. Modelos com curvatura para proteína bruta, nos diferentes tempos de fermentação. Biorreator tambor rotativo

Tempo (h)	Modelo empírico codificado	R ²	F _{cal} /F _{tab}
2	PB = 22,48 - 10,56 Curv + 2,50 C _L + 1,51 C _{FN} - 7,44 C _L .C _{FN}	99,86	3,29
4	PB = 23,34 + 19,93 Curv - 1,01 C _L + 12,86 C _{FN} + 0,99 C _L .C _{FN}	99,23	0,58
6	PB = 24,62 - 12,41 Curv + 2,33 C _L + 16,08 C _{FN} + 3,71 C _L .C _{FN}	99,64	1,23
8	PB = 35,18 - 22,78 Curv - 3,60 C _L + 6,24 C _{FN} - 0,31 C _L .C _{FN}	99,59	1,08
10	PB = 24,51 + 7,33 Curv + 5,09 C _L + 1,77 C _{FN} - 9,68 C _L .C _{FN}	98,96	0,43
12	PB = 19,66 + 11,74 Curv - 5,24 C _L + 8,38 C _{FN} - 2,44 C _L .C _{FN}	99,77	1,92
24	PB = 29,76 + 4,93 Curv + 5,11 C _L + 8,74 C _{FN} - 6,10 C _L .C _{FN}	97,99	0,22

Curv: Curvatura

Tabela 4.23. Modelos com curvatura para o aumento protéico, nos diferentes tempos de fermentação. Biorreator tambor rotativo

Tempo (h)	Modelo empírico codificado	R ²	F _{cal} /F _{tab}
2	AP = 3,25 - 1,50 Curv. + 0,35 C _L + 0,30 C _{FN} - 1,00 C _L .C _{FN}	99,94	7,03
4	AP = 3,42 + 3,02 Curv. - 0,075 C _L + 1,92 C _{FN} + 0,22 C _L .C _{FN}	99,83	3,05
6	AP = 3,65 - 1,85 Curv. + 0,40 C _L + 2,40 C _{FN} + 0,65 C _L .C _{FN}	99,73	1,68
8	AP = 5,1 - 3,25 Curv. - 0,45 C _L + 1,00 C _{FN} + 0,05 C _L .C _{FN}	99,76	1,88
10	AP = 3,55 + 1,20 Curv. + 0,70 C _L + 0,35 C _{FN} - 1,30 C _L .C _{FN}	99,60	1,11
24	AP = 4,30 + 0,85 Curv. + 0,75 C _L + 1,35 C _{FN} - 0,80 C _L .C _{FN}	99,05	0,49

Curv: Curvatura

Mediante as Tabelas 4.22 e 4.23 observa-se que os coeficientes de determinação obtidos para os modelos com curvatura foram mais altos que os apresentados pelo modelo linear, nos respectivos tempos de fermentação. Na Tabela 4.22 constata-se que os modelos que descrevem a relação entre as variáveis independentes e a proteína bruta nos tempo de 2, 6, 8 e 12 h de fermentação apresentaram a razão F_{cal}/F_{tab} maior que 1 sendo, portanto estatisticamente significativos (Barros Neto *et al.*, 1995). Para a resposta

aumento protéico foram estatisticamente significativos os modelos com curvatura para os tempos 2, 4, 6, 8 e 10 h de fermentação.

Os resultados da análise de variância, ANOVA, para o teor de proteína bruta nos tempos em que os modelos com curvatura foram estatisticamente significativos, ao nível de 90% de confiança estão apresentados no Apêndice A, Tabelas A9, A10, A11 e A12. E as Tabelas A.13, A.14, A.15, A.16 e A.17 apresentam os resultados da ANOVA, para o aumento protéico nos tempos em que os modelos com curvatura foram estatisticamente significativos.

As Figuras 4.60 e 4.61 representam os gráficos de Pareto para o teor de proteína bruta e aumento protéico, respectivamente, após 4 h de fermentação, com nível de confiança de 90%. Nestes dois gráficos apenas a concentração de fonte de nitrogênio (C_{FN}) foi que obteve efeito significativo.

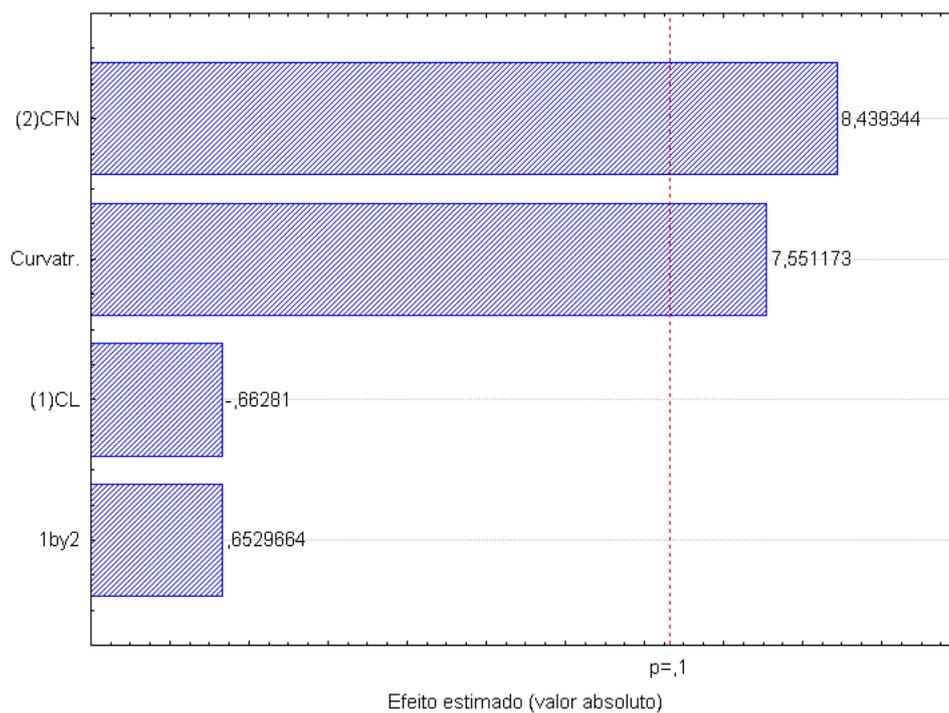


Figura 4.60. Gráfico de Pareto para o percentual de proteína bruta, após 4 h de fermentação em biorreator tambor rotativo.

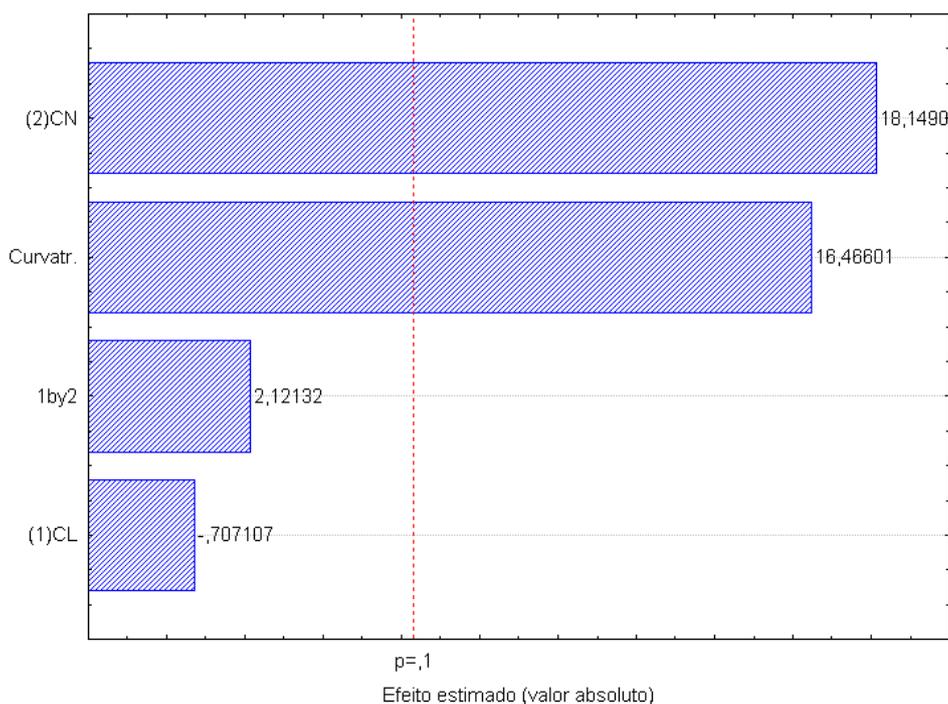


Figura 4.61. Gráfico de Pareto para o aumento protéico, após 4 h de fermentação em biorreator tambor rotativo.

De acordo com os valores experimentais de proteína bruta e aumento protéico apresentados na Tabela 4.13 e 4.15, respectivamente, verificou-se que assim como nas fermentações realizadas em bandejas, os experimentos 5 e 6 obtiveram os maiores resultados de PB e AP. Considerando-se os modelos matemáticos lineares propostos para cada tempo de fermentação (Tabela 4.20 e 4.21) verifica-se que os teores de proteína bruta e aumento protéico calculados para os tempos de 4 e 24 h são bem próximos entre si, utilizando as melhores condições experimentais codificadas (Nível 0). Diante desse fato o tempo de 4 h foi escolhido como o melhor tempo de fermentação utilizando-se de biorreator tambor rotativo, uma vez que se pretende otimizar o tempo do processo de enriquecimento protéico da palma forrageira.

A Figura 4.62 (A e B) apresenta o gráfico dos valores de proteína bruta observados experimentalmente versus valores preditos pelo modelo matemático linear sem curvatura (A) e com curvatura (B) no tempo de 4 h.

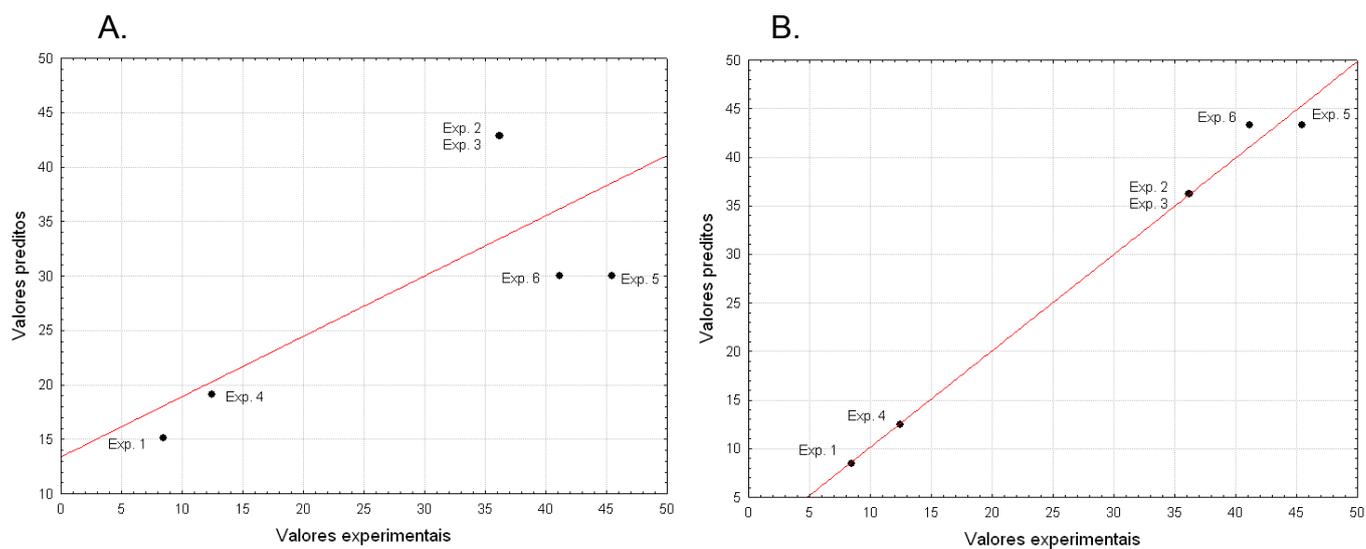


Figura 4.62. Valores de proteína bruta observados experimentalmente versus valores preditos pelo modelo matemático linear sem curvatura (A) e com curvatura (B), no tempo de 4 h.

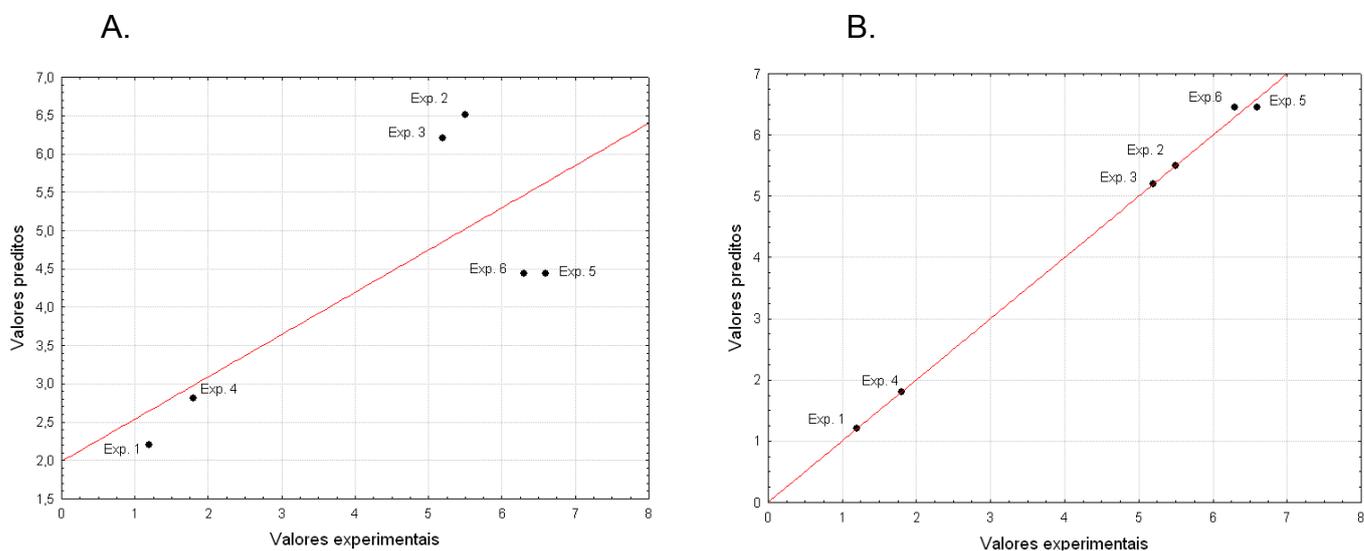


Figura 4.63. Valores dos aumentos protéicos observados experimentalmente versus valores preditos pelo modelo matemático linear sem curvatura (A) e com curvatura (B), no tempo de 4 h.

Observando as Figura 4.62 (A e B) e 4.63 (A e B) verifica-se que os experimentos 5 e 6 obtiveram os maiores resultados de PB e AP sendo suas condições experimentais iniciais de: 3% de concentração de levedura e 5% de concentração de uréia.

Almeida (2007) após 10 h de fermentação do mandacaru, a temperatura ambiente, com 5% de concentração da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, utilizando tambor rotativo alcançou um aumento protéico de aproximadamente 1,7 vezes. Este aumento protéico conseguido por Almeida (2007) é bem inferior ao encontrado neste estudo, no entanto deve-se destacar que no estudo do enriquecimento protéico do mandacaru não utilizou-se nenhuma fonte adicional de nitrogênio.

4.3.3. Considerações gerais

Comparando-se os resultados obtidos neste estudo durante as fermentações da palma forrageira realizadas em bandejas e tambor rotativo com os resultados obtidos por Araújo (2004), que estudou o enriquecimento protéico da palma forrageira em escala de bancada, utilizando biorreatores bandejas, são feitas algumas considerações:

Os resultados de PB e o seu respectivo AP alcançados neste trabalho são maiores que os obtidos no estudo em menor escala experimental. Ressaltando que embora Araújo (2004) tenha utilizado maiores concentrações de levedura em suas pesquisas (5,10 e 15%), não foi adicionada nenhuma fonte de nitrogênio ao substrato no início das fermentações.

Com relação ao tempo em que foi verificado os maiores aumentos protéicos, observou-se que nas fermentações em bandejas realizadas por Araújo (2004) após 48 h de processo alcançou-se um aumento protéico de 4 vezes. No presente estudo, o tempo ótimo de fermentação foi reduzido para 8 h, isso deve-se ao fato de que durante as fermentações houve a mistura do substrato a cada 2 h de processo e, principalmente a adição da uréia ao substrato que catalisou o processo. Considerando-se as mesmas condições iniciais do processo esse tempo foi ainda mais reduzido com a utilização do tambor rotativo.

4.3.4. Caracterização química da palma forrageira enriquecida nutricionalmente

Neste item são apresentados os valores das análises de caracterização química da palma forrageira *in natura* e após fermentação semi-sólida. Foram realizados novos experimentos, em duplicata, fixando-se os níveis das variáveis em 3% de concentração de levedura e 5% de concentração de uréia, condição em que foram obtidos os maiores resultados de proteína bruta e de aumento protéico, em ambos biorreatores estudados.

As Tabelas 4.24 e 4.25 apresentam os resultados da composição química da palma forrageira *in natura*, logo após a adição da levedura e da uréia (tempo 0) e no melhor tempo da fermentação, 8 h para o biorreator bandeja e 4 h para o biorreator tambor rotativo.

Tabela 4.24. Valores da composição química da palma forrageira *in natura* e enriquecida, com base no teor de matéria seca. Biorreator bandeja

Amostra	MS (%) (b.u.)	MO (%)	PB (%)	AP	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	EB Mca/ kg
<i>In natura</i>	7,02	86,54	6,76	-	0,12	2,01	2,45	0,07	3,2
Tempo 0	14,01	86,28	24,02	3,55	0,17	2,42	2,52	0,09	3,8
Tempo 8h	19,03	86,13	45,36	6,71	0,20	2,26	2,59	0,1	4,1

Tabela 4.25. Valores da composição química da palma forrageira *in natura* e enriquecida, com base no teor de matéria seca. Biorreator tambor rotativo

Amostra	MS (%) (b.u.)	MO (%)	PB (%)	AP	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	EB Mca/ kg
<i>In natura</i>	7,96	87,09	6,84	-	0,13	2,01	2,53	0,08	3,1
Tempo 0	18,91	86,80	27,69	4,05	0,18	2,40	2,58	0,1	3,8
Tempo 4h	18,99	86,56	46,01	6,73	0,20	2,42	2,61	0,1	4,3

O teor médio de matéria seca (MS) apresentado pela palma *in natura* utilizada para o enriquecimento nos dois biorreatores foi de $7,49 \pm 0,66\%$. Farias *et al.* (1984), FAO (2001) e Barbosa (1998) encontraram valores de MS de 8,6; 6,8 e 6,7%, respectivamente. Comparando-se o teor de MS das amostras *in natura* com os valores obtidos durante o processo, verifica-se um aumento de 7,02-19,03%, após 8 h de fermentação realizada em bandeja e um aumento de 7,96-18,99%, na amostra retirada após 4 h de fermentação em tambor rotativo. Este fato também foi evidenciado por Araújo (2004) quando estudou o enriquecimento da palma por leveduras sem adição de uréia; o aumento verificado foi de 9-14%. Perazzo Neto (1999) observou um teor de matéria seca de 8,92% em relação a 8,0% na forma *in natura*, quando estudou o enriquecimento da palma com o *Aspergillus niger*. Ainda segundo Araújo (2004) o fato observado deve-se a formação de CO₂ (evidenciando crescimento da levedura) e evaporação de H₂O havendo dessa forma concentração de massa no material fermentado em relação ao material na forma *in natura*.

O teor de matéria orgânica (MO) das amostras *in natura* foi de $86,81 \pm 0,39\%$. Esse valor é muito próximo aos encontrados por Araújo (2004) que foi de 85,48% e Araújo *et al.* (2004) foi de 88,66%. Durante o processo de enriquecimento percebeu-se uma pequena diminuição no percentual de matéria orgânica, nos dois biorreatores estudados. Após fermentação obteve-se 86,13% de MO depois de 8 h de processo utilizando-se bandeja e 86,56% de MO após 4 h em tambor rotativo. Este fato deve-se ao consumo de carboidratos solúveis pelos microrganismos para síntese protéica (Araújo,

2004).

A palma forrageira *in natura* apresentou em média $6,8 \pm 0,06\%$ de proteína bruta (PB). Após 8 h de fermentação em biorreator bandeja alcançou-se 45,36% de PB que correspondeu a um aumento protéico (AP) de 6,71 vezes. Quando utilizou-se o tambor rotativo o teor de PB foi de 46,01% correspondendo a um AP de 6,73 vezes. Apesar de serem bem próximos os valores de AP, deve-se lembrar que no tambor rotativo esse aumento foi conseguido após 4 h de processo. Os valores de PB encontrados neste trabalho, depois do enriquecimento nutricional estão de acordo com as especificações da norma de alimentação da National Research Council (NRC) (1989) que recomenda uma suplementação protéica contendo um teor de proteína bruta de 14 a 16% para vacas secas, 18% em rações iniciais para bezerros e de 20 a 24% ou mais dependendo da produção de vacas em lactação.

Comparando os percentuais de PB encontrados, neste trabalho, com os teores protéicos recomendados pelo NRC *apud* Araújo (2004), observa-se que a palma forrageira enriquecida nutricionalmente alcançou teores protéicos superiores aos dos concentrados de aveia esmagada (14,7%), farelo grosso de trigo (15,0%), torta de babaçu (20,5%), coco da Bahia prensado (21,2%), semente de algodão (23,1%), grãos de ervilha (23,4%), farelo de babaçu (24%) e farelo de aveia (25,8%).

Segundo Santos *et al.* (1997) a palma forrageira apresenta altos teores de cinzas na matéria seca, com destaque para o cálcio, 2,25-2,88%; potássio, 1,5 - 2,45%; e fósforo, 0,10-0,14%. Segundo Wanderley *et al.* (2002) o NRC recomenda, para os níveis de exigência de vacas em lactação, com base na matéria seca, teores de fósforo, potássio e magnésio nas rações de 0,28 a 0,42%; 0,9 a 1,0%; 0,20 a 0,25%, respectivamente. Quando comparado a estes valores, observa-se que os teores de P e de Mg alcançados após fermentação, nos dois biorreatores, são um pouco inferiores ao valor mínimo exigido. Os teores de K e de Ca embora na forma *in natura* já fossem suficientes as necessidades do animal, após enriquecimento foram elevados.

A palma forrageira na forma *in natura* analisada apresentou teor de energia bruta igual $3,15 \pm 0,07$ Mcal/Kg. Após enriquecimento nutricional a palma forrageira apresentou teores de energia bruta (EB) de aproximadamente

4,2 Mcal/Kg, nos dois biorreatores estudados. Segundo Araújo (2004) essa cactácea apresenta altos teores de energia bruta. Isto significa que a mesma possui carboidratos, principalmente monossacarídeos na sua composição química que podem ser utilizados pelos microrganismos no processo de fermentação, além de serem considerados uma das principais fontes de calor e energia. Em seus estudos o autor encontrou uma pequena oscilação nos valores de EB da palma durante seu enriquecimento protéico, o que sugeriu uma instabilidade entre o consumo e a produção de carboidratos durante o processo, uma vez que o microrganismo utiliza os carboidratos para a síntese de proteína.

De acordo com o exposto acima verifica-se que o objetivo de enriquecer nutricionalmente a palma forrageira através da fermentação semi-sólida utilizando-se levedura e uréia, tanto em biorreator bandeja como em tambor rotativo, foi alcançado. A palma enriquecida poderá ser utilizada como suplemento nutricional (protéico, mineral e energético) para alimentação animal, pois obedecem às normas estabelecidas pela NRC (1989) e podem substituir parcialmente as rações convencionais formando-se uma alternativa de barateamento dos custos dos produtores.

4.3.5. Tempo de armazenamento do produto final

A Tabela 4.26 apresenta os resultados do percentual de proteína bruta durante nove meses de armazenamento, referente ao experimento 2 realizado nos testes preliminares, ou seja, condição em que obteve-se o maior aumento protéico (temperatura de fermentação de 40 °C e 5% de concentração de levedura).

Observou-se que o percentual de proteína bruta do produto final da fermentação permanece o mesmo durante o intervalo de nove meses, comparando-se com o último valor de proteína analisado no processo de fermentação. Dessa forma, verificou-se que é viável o armazenamento, por um período de nove meses, da palma forrageira enriquecida nutricionalmente sem adição de uréia.

Tabela 4.26. Percentual de proteína bruta da palma forrageira enriquecida nutricionalmente durante armazenamento, expresso na base seca

	Tempo de armazenamento (meses)			
	0 [*]	3	6	9
Proteína bruta (%)	21,67	21,02	20,94	21,39

* Tempo 0 representa a amostra analisada logo após fermentação

CAPÍTULO 5

CONCLUSÕES

5. CONCLUSÕES

- O modelo de GAB ajustou melhor os dados experimentais das isotermas de adsorção da palma forrageira *in natura*, nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C.
- O modelo de Henderson foi o que melhor ajustou os dados experimentais das isotermas de adsorção da palma forrageira enriquecida nutricionalmente, nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C.
- O calor isostérico de adsorção da palma forrageira enriquecida nutricionalmente decresce com o aumento da umidade de equilíbrio.
- Nas fermentações realizadas nos teste preliminares conseguiu-se um teor de proteína bruta de 21,23%, que corresponde a um aumento protéico de 2,6 vezes, quando comparado com o teor protéico bruta da palma *in natura*.
- Com os resultados do estudo preliminar fixou-se o intervalo de 24 h como sendo o tempo limite das fermentações semi-sólidas da palma forrageira.
- O teor máximo de proteína bruta e de aumento protéico alcançados nas fermentações realizadas em biorreatores bandejas foi de 40,61% e 6,05 vezes, respectivamente. As condições experimentais correspondentes a esses valores foram: concentração de levedura 3% e concentração de fonte de nitrogênio de 5%.
- O teor máximo de proteína bruta e de aumento protéico alcançados nas fermentações realizadas em biorreator tambor rotativo foi de 43,27% e 6,44 vezes, respectivamente. As condições experimentais correspondentes a esses valores foram: concentração de levedura 3% e concentração de fonte de nitrogênio de 5%.
- O tempo de fermentação em que alcançou-se os maiores resultados de proteína bruta e de aumento protéico foi de 8 h para as fermentações

realizadas em bandejas e de 4 h para as fermentações realizadas em tambor rotativo.

- Os estudos mostraram que o enriquecimento da palma por fermentação semi-sólida, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* pode ser feito com ou sem adição de fonte de nitrogênio. Encontrando-se em ambos os casos valores de proteína bruta satisfatórios.

- A palma enriquecida poderá ser utilizada como suplemento nutricional (protéico, mineral e energético) para alimentação animal, pois obedece às normas estabelecidas pela NRC (1989) e podem substituir parcialmente as rações convencionais formando-se uma alternativa de barateamento dos custos dos produtores.

- Os teores de proteína bruta obtidos nesse trabalho estão de acordo com as normas da NRC (1989), independente do biorreator e da utilização ou não de fonte de nitrogênio.

- O percentual de proteína bruta da palma forrageira enriquecida nutricionalmente sem adição de uréia permanece o mesmo durante um período de nove meses.

CAPÍTULO 6

PERSPECTIVAS

6. PERSPECTIVAS

Como perspectivas para trabalhos futuros destacam-se:

- Avaliar a diminuição dos níveis de concentração da fonte de nitrogênio, uréia, no processo de enriquecimento nutricional da palma forrageira;
- Testar o enriquecido produzido com animais a fim de obter informações relacionadas ao desempenho no ganho de peso e produção de leite;
- Estudar o tempo de armazenamento da palma enriquecida nutricionalmente com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e uréia.
- Estudar a viabilidade econômica do processo em escala piloto do enriquecimento nutricional da palma forrageira.

CAPÍTULO 7

REFERÊNCIAS

7. REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, P.M.; KOCH, F.; GOULART, T.T.; ESPÓSITO, E.; NINOW, J.L. Enriquecimento protéico do bagaço de maçã com proteína fúngica através da fermentação em estado sólido. In: Simpósio Nacional de Fermentações (CD Rom), Florianópolis, 2003.

ALMEIDA, M.M. Estudo da bioconversão do mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC.) para produção de bioprodutos. Tese Doutorado, Universidade de Campina Grande, Campina Grande, 2007.

AL-MUHTASEB, A. H.; MCMINN, W. A. M.; MAGEE T. R. A. Water sorption isotherms of starch powders. Part 2: Thermodynamic characteristics. Journal of Food Engineering, v. 62, p. 135–142, 2004.

AMBIENTE BRASIL. Pesquisa eleva teor protéico da palma forrageira. Disponível em:<<http://www.ambientebrasil.com.br/agenda>>. Acesso em 24 de Janeiro de 2005.

AMORIM, B.C.; MOTA, M.M.A.; SIMÕES, V.S.; SILVA, F.L.H.; OLIVEIRA, L.S.C. Estudo do enriquecimento protéico do bagaço da fruta da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill). VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. p.1-6, 2005.

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. Official methods of analysis. Washington, Ed.12, 1990.

ARAÚJO, L.F. Enriquecimento protéico do mandacaru sem espinhos (*Cereus jamacaru* P.DC) e palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) por fermentação semi-sólida. Tese Dotorado, Universidade de Campina Grande, Campina Grande, 2004.

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

ARAÚJO, L.F.; MEDEIROS, A.N.; PERAZZO NETO, A.; OLIVEIRA, L.S.; SILVA, F.L.H. Protein enrichment of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* Mill) using *Saccharomyces cerevisiae* in solid state fermentation. Brazilian Arch Biology and Technology, v.48, p.161-168, 2005.

ARAÚJO, P.R.B.; FERREIRA, M.A.; BRASIL, L.H.A.; SANTOS, D.C.; LIMA, R.M.B.; VÉRAS, A.S.C.; SANTOS, M.V.F.; BISPO, S.V.; AZEVEDO, M. 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.

BARBOSA, H.P. Tabela de composição de alimentos do estado da Paraíba-Setor Agropecuário. FAPEP/UFPB, 1998.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, J.S.; BRUNS, R.E. Planejamento e otimização de experimentos. Editora da UNICAMP, Campinas, 1995.

BATISTA FILHO, M. Consumo de palma atenua carência de vitamina A. Disponível em:<<http://www.barney1.hpg.ig.com.br/palma.html>>. Acesso em 07 de Fevereiro de 2005.

BATISTA, Â.M.V.; MUSTAFA, A.F.; MCKINNON, J.J.; KERMASHA, S.; DUBEUX JR, J.C.B.; ALMEIDA, O.C. Caracterização química de variedades de palma forrageira. In: XXXIX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2002, Recife. Anais da XXXIX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2002.

BIZOT, H.; RIOU, N.; MULTON, J.L. Guide pratique pour la détermination des isothermes et de l'activité de l'eau. Sciences des Aliments. Numéro hors série, 1987.

BLAHOVEC, J. Sorption isotherms in materials of biological origin mathematical and physical approach, *Journal of Food Engineering*, v.65, p.489-495, 2004.

BRAGA, M.E.D. Estudo da histerese entre as isotermas de sorção e dessorção do milho BR. Dissertação Mestrado, Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, 1991.

BUTOLO, J.E. Uso de biomassa de levedura em alimentação animal: propriedades, custos relativo e outras fontes de nutriente. In: Workshop Produção de Biomassa de Levedura: utilização em alimentação humana e animal, Campinas, p.70-89, 1997.

CAMPOS, A.R.N. Enriquecimento protéico do bagaço do pedúnculo de caju (*Anarcadium occidentale* L.) por fermentação semi-sólida. Dissertação Mestrado, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2003.

CANOILAS, L.M. Enriquecimento protéico de resíduos de farinha de mandioca pelo desenvolvimento de leveduras. Dissertação Mestrado, ESALQ, Piracicaba, 1991.

CAPRA, F.; RIBEIRO, N.P.; VARGAS, G.D.L.P.; OLIVEIRA, D.; FREIRE, D.M.G.; LUCCIO, M.D. Efeito da umidade temperatura e suplementação do meio na produção de lípase por *Penicillium simplicissium* utilizando torta de soja como substrato. In: Simpósio Nacional de Fermentações (CD Rom), Florianópolis, 2003.

CARVALHO, H.H. & JONG, E.V. Alimentos: Métodos físicos e Químicos de Análises. Editora Universidade, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002.

CARVALHO, M.A.H. Influência do cultivo dos fungos *Aspergillus niger* e *Fusarium oxysporum* sobre a composição química da palma forrageira (*Opuntia*

ficus indica Mill). Dissertação mestrado, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 1999.

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.

CORREIA, R.T.P. Estudo do cultivo semi-sólido de *Saccharomyces cerevisiae* e *Rhizopus Oligosporus* em resíduo de abacaxi. Tese Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2004.

COSTA, B.N de C.; MENDONÇA, C.A.G.; CALAZANA, J.A.M. Forrageiras arbóreas e suculentas para formação de pastagens. Cruz das Almas, 1973.

DAGUENET, M. Lês séchoirs solaires: Théorie et pratique. Paris, France: Publication de l'UNESCO, 1985.

DATA AMÉRICA. Projeto palma: relatório técnico. Disponível em: <<http://www.pe.sebrae.com.br:8080/notitia/download/palma.pdf>>. Acesso em 05 de Fevereiro de 2004.

DOMINGUES, O. Origem e introdução da palma forrageira no Nordeste. Instituto Joaquim Nabuco de Pesquisa Sociais, Recife, 75p, 1963.

DORTA, B.; BOSCH, A.; ARCAS, I.; ERTOLA, R. Water balance in solid state fermentation without forced aeration. *Enzyme Microbiology Technology*, v.16, p.562-565, 1994.

DUNAND, A.; RENAUD, R.; MARATRAY, J.; ALMANZA, S.; DIEZ, M. Dijon reactors for solid state fermentation: designs and applications. *Journal of Scientific and Industrial Research*, v.55, n.3, p.317-332, 1996.

DURAND, A.; CHÉREAU, D. A new pilot reactor for solid-state fermentation: application to the protein enrichment of sugar beet pulp. *Biotechnology and Bioengineering*, v.31, p.476-486, 1988.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. World agricultural information center. Disponível em: <http://www.fao.org/waicent/search/default.asp>. Acesso em: 12 de Setembro de 2001.

FARIAS, I.; FERNANDES, A. de P.M.; LIMA, M. de A.; SANTOS, D.C.; FRANÇA, M.P. Cultivo da palma forrageira em Pernambuco. Recife: IPA: Instruções técnicas 5p.(documentos 21),1984.

FERNANDEZ, M.; PÉREZ, J.R.; SOLAR, I.; AGOSIN, E. Automation of a solid substrate cultivation pilot reactor. *Bioprocess Engineering*, v.16, p.1-4, 1997.

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

GABAS, A.L. Secagem de uva Itália em leito fixo. Dissertação Mestrado. Universidade de Campinas, Campinas, 1998.

GERVAIS, P.; MARECHAI, P.A; MOLIN, P. Water relations of solid-state fermentation. *Journal of Scientific and Industrial Research*, v.55, p.343-357, 1996.

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

GOUVEIA, J.P.G.; ALMEIDA, F.A.C.; FONSECA, K.S.; FERNANDEZ, F.R.; MURR, F.E.X. Estudo das isotermas de sorção e calor isostérico do gengibre em casca. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola, 28, 1999. Anais... Jaboticabal: SBEA. CD Rom. 1999.

HERMANN, S.R.; HERNANDEZ, F.; RIVALDI, J.D.; SILVEIRA, G.G. Produção de pectina liase e amilase por fermentação no estado sólido à base de bagaço de laranja e farelo de arroz. In: Simpósio Nacional de Fermentações (CD Rom), Florianópolis, 2003.

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

HONGZHANG,C.; FUJIAN,X.; ZHONGHOU,T.; LI ZUOHU, A. A novel industrial-level reactor with two dynamic changes of air for solid-state fermentation. Journal of bioscience and bioengineering, n.2, v.93, p.211-214, 2002.

HSU, W.C. Protein from in Taiwan. Sugar y azucar, v.56, p.128-137, 1961.

IGLESIAS, H.; CHIRIFE, J. Prediction of the effect of temperature on water sorption isotherms of food material. Journal of Food Technology, Oxford, v.11, p.109-116, 1976.

INGLESE, G.B.P.; BARRIOS, E.P. Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira. SEBRAE/PB, 2001.

KECHAOU, N.; MAALEJ, M. Desorption isotherms of imported banana. Drying Technology, New York, v.17, n.6, p.1201-1213, 1999.

KILBERG, R. The microbe as a source of food. Annual review of Microbiology, n.5, v.26, p.428-466, 1972.

KOCK, G.C. Drought resistant fodder shrub crops in South Africa. In: Le Howérou, H.n. (Ed) Browse in Africa: The current State of Knowledge. Internation Livestock Centre for Africa. 491p., 1980.

KOLICHESKI, M.B. Produção de ácido cítrico por fermentação no estado sólido utilizando como substrato bagaço de mandioca. Dissertação de mestrado, Universidade Federal Paraná, Curitiba, 1995.

KOUHILA, M.; BELGHIT, A. DAGUENET, M. Approche expérimentale des isothermes de sorption de la menthe en vue d' un séchage par énergie solaire. Revue des Energies Renouvelables, n.2, v.1, p.61-68, 1999.

KRIDER, J.L.; CONRAD, J.H.; CARROL, W.W. Swine production. Ed8. New York, MacGraw Hill, 679p., 1982.

LABUZA, T.P. Sorption phenomena in foods. Food Technology, Chicago, v.22, n.3, p.263-274, 1968.

LAHSASNI, S.; KOUHILA, M.; MAHROUZ, M.; FLIYOU, M. Moisture adsorption-desorption isotherms of prickly pear cladode (*Opuntia ficus-indica*) at different temperatures. Energy Conversion and Management, n.44, p. 923-936, 2003.

LE POIDEVIN, N.; ROBINSON, L.A. Métodos de diagnóstico foliares utilizados nas plantações do grupo booken na Guiana Inglesa: amostragem geral e técnicas de análises. Fertilité, n.21, p.3-11, 1964.

LIMA, M.A.; FRANÇA, M.P.; DIAS, F.M. Emprego da associação da palma forrageira e silagem de sorgo na alimentação de vacas holandesas em lactação. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Balneário Camboriú: Anais da SBZ, 133p.,1981.

LODDER, J. The yeast: a taxonomic study. Ed.2. Amsterdam, 1385p., 1971.

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

LONSANE, B.K.; GHIDYAL, N.P.G.; BUDIATMAN, S.; RAMAKRISHNA, S.V. Engineering aspects of solid state fermentation. *Enzyme Microbiology Technology*, v.7, p.258-265, 1985.

MATTER, H.E. The utilization of *Opuntia* of livestock. *Animal Research and Development*, v.23, n.1, p.107-115, 1986.

MAUREL, V.B.; OORLIAC, O.; CHRISTEN, P. Sensors and measurements in solid state fermentation: a review. *Process Biochemistry*, v.38, p.881-896, 2003.

McLAUGHLIN, C.P.; MAGEE, T.R.A. The determination of sorption isotherm and isosteric heats of sorption for potatoes. *Journal of Food Engineering*, n.35, p.267-280, 1998.

MELO, J.F. A importância da utilização da palma forrageira como alimento para o gado, principalmente na época do verão. Disponível em: <<http://www.agroline.com.br/artigos.php?id=197>>. Acesso em 07 de Fevereiro de 2005.

MENDES, B.V. Alternativas tecnológicas para a agropecuária do semi-árido. São Paulo, Nobel, p.91-94, 1986.

MITCHELL, D.A.; KRIEGER, N.; STUART, D.M.; PANDEY, A. New developments in solid-state fermentation II. Rational approaches to the design, operation and scale-up of bioreactors. *Process Biochemistry*, v.35, p.1211-1225, 2000.

MITCHELL, D.A.; PANDEY, A.; SANGSURASAK, P.; KRIEGER, N. Scale up for packed-bed bioreactors for solid state fermentation. *Process Biochemistry*, v.35, p.167-178, 1999.

MORAES, A.F. Enriquecimento protéico de farelo e arroz por fermentação semi-sólida em biorreator de coluna com leito fixo. Dissertação mestrado, Fundação Universidade do Rio Grande, Rio Grande do Sul, 1999.

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

NAGEL, F.J.J.I.; TRAMPER, J.; BAKKER, M.S.N. RINZEMA, A. Temperature control in a continuously mixed bioreactor for solid station fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*, v.72, p.219-230, 2001.

NIGAM, P.; SINGH, D. Solid state (substrate) fermentation systems and their applications in biotechnology. *Journal Basic Microbiology*. v.34, p.405-423, 1994.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of beef cattle, 6.ed. Washington: National Academy of Science, (nutrient requirements of domestic animals), v.1, 157p. 1989.

NOBEL, P.S.; RUSSEL, C.; FELKER, P.; MEDINA, J.G.; ACUNA, E. Nutrient relations and productivity of prickly pear catte. *Agronomy Journal*, v.7, p. 550-555, 1987.

NOVELY, P.E. Aspectos do efeito do superpastoreio na produção e manejo de pastagem nativa no Nordeste do Brasil. In: *Semana Brasileira de Caprinos*. Anais... Sobral: p.7-18, 1982.

OLIVEIRA, M.M. Enriquecimento nutricional por bioconversão de resíduos agroindustriais para utilização na alimentação animal. Tese Dotourado, Universidade de Campina Grande, Campina Grande, 2007.

OLIVEIRA, M.M.; CAMPOS, A.R.N.; GOUVEIA, J.P.G.; SILVA, F.L.H. Estudo do equilíbrio higroscópico do resíduo casca do abacaxi (*Ananás comosus* L.

Mer). In: IX Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e V Encontro Latino Americano de Pós-Graduação, Universidade do Vale do Paraíba: Anais da UNIVAP, 265p., 2005b.

OLIVEIRA, M.M.; CAMPOS, A.R.N.; GOUVEIA, J.P.G.; SILVA, F.L.H. Isotermas de dessorção da casca do maracujá (*passiflora edulis* sims) In: IX Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e V Encontro Latino Americano de Pós-Graduação, Universidade do Vale do Paraíba: Anais da UNIVAP, 265p., 2005a.

OOJIKAAAS, F. Defined media and inert supports: their potential as solid state fermentation production systems. TBITECH, v.18, p356-359, 2000.

OOSTRA, J.; TRAMPER, J.; RINZEMA, A. Model-based bioreactor selection for large-scale solid-state cultivation of *Coniothyrium minitans* spores on oats. Enzyme and Microbial Technology, v.27, p. 652–663, 2000.

PALIPANE, K.B.; DRISCOLL, R. H. Moisture sorption characteristics of in-shell macadamia nuts. Journal of Food Engineering, v. 18, n. 1, p. 63-76. 1992.

PANAROTO, C.; MALVESSI, E.; SILVEIRA, M.M. Avaliação de cascas de limão Taiti como fonte indutor na produção de polligalacturonases por *Aspergillus niger* em estado sólido. In: Simpósio Nacional de Fermentações (CD Rom), Florianópolis, 2003.

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

PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; RODRIGUEZ-LEON, J.; NIGAM, P. Solid-State fermentation in biotechnology, Asiatech Publishers Inc., New Delhi, India, 2001.

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

PARK, K.J.; NOGUEIRA, R.I. Modelo para ajuste de isoterma de sorção de alimentos. Revista Engenharia Rural, Piracicaba, n.3, v.1, p.80-86, 1992.

PELCZAR, M.J.; REID, D.; CHAM, E.C.S. Microbiologia, v.1. São Paulo, MacGraw Hill do Brasil, 1980.

PENA, R.S.; RIBEIRO, C.C., GRANDI, G.G. Aplicação de modelos matemáticos bi e tri-paramétricos na predição de isotermas de sorção de umidade do guaraná (*Paullinia cupana*) em pó. Ciência e tecnologia de Alimentos, v.20, n.1, p.54-58, 2000.

PERAZZO NETO, A. Determinação de parâmetros para o enriquecimento protéico da palma (*Opuntia ficus-indica*) e vagens de algarroba (*Prosopis juliflora*) com *Aspergillus niger*. Tese Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999.

PEZANTES, D.V.; SOBRAL, P.J.A. ; HUBINGER, M.D. Response surface analysis of mass exchange during pulsed vacuum osmotic dehydration of atlantic bonito (*Sarda sarda*). In: I. Farkas. (Org.). Drying 2006. 1 ed. Godollo: Szent István University Publisher, v. B, p. 865-870, 2006.

PINTO, G.A.S.; BRITO, E.S.; SILVA, F.L.H.; SANTOS, S.F.M.; MACEDO, G.R. Fermentação em estado sólido - uma alternativa para o aproveitamento e valorização de resíduos agroindustriais. Revista de Química Industrial. Ano 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.

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

state fermentation. Netherlands. Kluwer Academic Publishers. p.169-181, 1980.

RAINHO, J.C.M.; CHUONG, W.; ESPÓSITO, E. Fermentação sólida da borra de café para produção de *Plurotus ostrteatus*. In: Simpósio Nacional de Fermentações (CD Rom), Florianópolis, 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.

REYES, F.G.R. Polissacarídeo da palma gigante (*Opuntia ficus-indica* Mill): propriedades e estruturas. Tese Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1978.

ROBISON, T.; NIGAM, P. Bioreactor desing for protein enrichment of agricultural residues by solid state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, v.13, p.179-203, 2003.

RODRIGUES, C. Desenvolvimento de bioprocesso para produção de ácido cítrico por fermentação no estado sólido utilizando polpa cítrica. Dissertação Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

ROUSSOS, S.; LONSANE, B.K.; RAIMBAULT, M.; VINIEGRA-GONZALEZ, G. *Advances in solid state fermentation. Proceedings of the 2nd International Symposium on Solid State Fermentation.* Kluwer Academic Publishers, 1995.

SANTANA, O.P.; ESTIMA, A.L.; FARIAS, I. Palma versus silagem na alimentação de vacas leiteiras. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.1, n.1, p.31-40, 1972.

SANTIN, A.P. Estudo da secagem e da inativação de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*). Dissertação Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1996.

SANTOS, D.C.; FARIAS, I.; LIRA, M.A. Palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill e *Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck) em Pernambuco; cultivo e utilização. Recife: IPA, 23p. (Documentos, 25), 1997.

SANTOS, D.C.; SANTOS, M.V.F.; FARIAS, I.; DIAS, F.M.; LIRA, M.A. Desempenho produtivo de vacas 5/8 Holando/Zebu alimentadas com diferentes cultivares de palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*). Revista Brasileira de Zootecnia, n.30, v.1, p.12-17, 2001.

SANTOS, M.V.F.; LIRA, M.A.; FARIAS, I. Efeito do período de armazenamento pós-colheita sobre o teor de matéria seca e composição química das palmas forrageiras. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.27, p.777-783, 1992.

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, M.V.F.; LIRA, M.A.; FARIAS, I. Estudo comparativo das cultivares de palma forrageira gigante, redonda (*Opuntia ficus-indica* Mill) e miúda (*Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck) na produção de leite. Revista Brasileira de Zootecnia, v.19, n.6, p.504-511, 1990.

SATO, K.; NAGATANI, M.; SATO, S. A method of supplying moisture to the medium in a solid-state culture with forced aeration. Journal Fermentation Technology, v.60, p.607-610, 1982.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. Biotecnologia industrial. Engenharia Bioquímica. v.2. Editora Edgard Blücher LTDA. São Paulo, 2001.

SHOOP, M.C.; ALFORD, E.J.; MAYLAND, H.F. Plains prickly pear is a good forage for cattle. Journal of Range Management, v.30, p. 12-17, 1977.

SILVA, J. D. Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos). Editora UFV. São Paulo, 1998.

SILVA, M.M.; GOUVEIA, J.P.G.; ALMEIDA, F.A.C. Dessorção e calor isostérico em polpa de manga. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 6, n.1, p.123-127, 2002.

SIMAS, F.M. Carne valorizada pelo adicional de proteína. Disponível em: <<http://www.zoonews.com.br>>. Acesso em 05 de Abril de 2004.

SOCCOL, C. R. Contribuição ao estudo da fermentação no estado sólido em relação com a produção de ácido fumárico, biotransformação de resíduo sólido de mandioca por *Rhizopus* e Basidiomacromicetos do gênero *Pleurotus*. Tese (Prof. Titular), Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 1994.

SOCCOL, C. R. & VANDENBERGHE, L. P. S. Overview of applied solid state fermentation in Brazil. Biochemical Engineering Journal, v.13, p.205-218, 2003.

STREIT, F.; KOCH, F.; TROSSINI, T.G.; LARANJEIRA, C.M.; NINOW, J.L. Aproveitamento do bagaço de maçã para produção de quitosana fúngica. In: Simpósio Nacional de Fermentações (CD Rom), Florianópolis, 2003b.

STREIT, F.; HECK, J.X.; SCHIRMER, A.; AYUB, M.A.Z.; HERTZ, P.F. Goma xantana: produção e extração em cultivo semi-sólido a partir de um resíduo fibroso de soja. In: Simpósio Nacional de Fermentações (CD Rom), Florianópolis, 2003a.

SUHET, M. I. Enriquecimento protéico do resíduo da industrialização do abacaxi (*Ananas comosus* Merrill) por fermentação: utilizando fungos filamentosos. Dissertação Mestrado, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 1999.

TEIXEIRA, J.C.; EVANGELISTA, A.R.; PERZ, J.R.; TRINDADE, I.A.C.M.; MORON, I.R. Cinética da digestão ruminal da palma forrageira. *Ciência e Agrotecnologia*, v.23, n.1, p.179-183, 1999.

THIEMANN, J.E. Produção de enzimas por fermentação em substrato semi-sólido com especial referência às celulases. In: *Seminário de Hidrólise Enzimática de Biomassas*, Maringá. p.107-131, 1985.

TIMBAU, A.O. Cactáceas forrageiras. In: *Pecuária intensiva com uma introdução sobre forrageiras e pastos*. São Paulo, Nobel, p.74-81, 1987.

TOYAMA, N. Feasibility of sugar production from agricultural and urban cellulosic wastes with *Trichoderma viride* cellulose. *Biotechnology and Bioengineering*, n.6, p.207-219, 1976.

VANANUVAT, P.; KINSELLA, J.E. Amino acid composition of protein isolates from *Saccharomyces fragilis*. *Journal Agricultural Food Chemistry*, n.3, v.23, p.595-597, 1975.

VANDENBERGHE, L. Développement d'un procédé pour la production d'acide citrique par fermentation en milieu solide à partir de résidus de l'agro-industrie du manioc. Tese Doutorado, Université de Technologie de Compiègne, 2000.

VANDENBERG, C.; BRUIN, S. Water activity and its estimation in food systems: Theoretical aspects. In: ROCKLAND, L.B.; STEWART, G.F. *Water activity: Influences on food quality*. New York: Academic Press, p.1-61, 1981.

VILLEGAS, E.; AUBAGUE, S.; ALCANTARA, L.; AURIA, R.; REVAH, S. Solid state fermentation: acid protease production in controlled CO₂ and O₂ environments. *Biotechnology*, v.11, p.387-397, 1993.

VINIEGRA-GONZÁLEZ, G. Strategies for the selection of mold strains geared to produce enzymes on solid substrates, In: GALINDO, E.; RAMYREZ, O.T.

(Eds.), *Advances in Bioprocess Engineering II*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht , p. 123–136, 1998.

WANDERLEY, W. L.; FERREIRA, M. de A.; ANDRADE, D.K.B. de.; VÉRAS, A.S.C.; FARIAS, I.; LIMA, L.E. de.; DIAS, A.M. de. A. Palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) em substituição à silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) na alimentação de vacas leiteiras. *Revista Brasileira de Zootecnia* v. 31, n. 1, 2002.

APÊNDICE A

Tabela A1. Umidade de equilíbrio (X_{eq}) para a palma forrageira *in natura* em função da temperatura e da atividade de água (a_w)

Temperatura					
30 °C		35 °C		40 °C	
a_w	X_{eq}	a_w	X_{eq}	a_w	X_{eq}
0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,318	0,016	0,359	0,038	0,362	0,096
0,348	0,018	0,437	0,044	0,400	0,106
0,431	0,047	0,523	0,051	0,576	0,107
0,498	0,071	0,568	0,085	0,676	0,121
0,580	0,090	0,600	0,078	0,712	0,130
0,660	0,115	0,647	0,098	0,757	0,137
0,724	0,130	0,723	0,076	0,786	0,166
0,762	0,150	0,774	0,097	0,813	0,169
0,846	0,219	0,806	0,125	0,830	0,196
0,877	0,308	0,812	0,112	0,855	0,205
0,909	0,432	0,843	0,151	0,896	0,287
0,919	0,509	0,888	0,196	0,915	0,381
0,923	0,491	0,902	0,380	0,928	0,680
0,936	0,779	0,923	0,561	0,941	1,008

Tabela A2. Umidade de equilíbrio (X_{eq}) para a palma forrageira enriquecida nutricionalmente em função da temperatura e da atividade de água (a_w)

Temperatura					
30 °C		35 °C		40 °C	
a_w	X_{eq}	a_w	X_{eq}	a_w	X_{eq}
0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,390	0,033	0,406	0,035	0,409	0,033
0,523	0,061	0,521	0,049	0,511	0,056
0,615	0,080	0,607	0,079	0,596	0,058
0,651	0,093	0,662	0,090	0,643	0,077
0,748	0,114	0,737	0,108	0,734	0,090
0,774	0,118	0,785	0,124	0,769	0,119
0,819	0,162	0,806	0,154	0,830	0,152
0,865	0,196	0,863	0,173	0,867	0,185
0,884	0,241	0,875	0,198	0,869	0,183
0,898	0,208	0,920	0,210	0,887	0,227

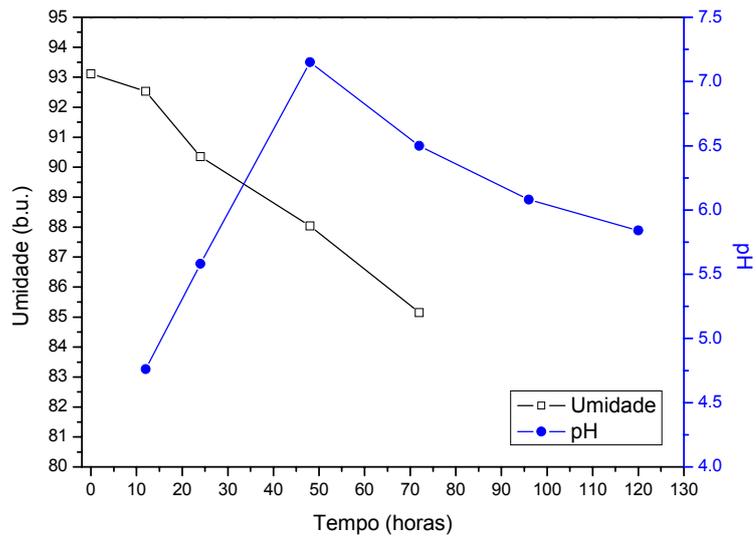


Figura 1A. Variação do pH e umidade em função do tempo de fermentação, a temperatura de 40 °C. Testes preliminares: experimento 1 (1% concentração inicial de leveduras).

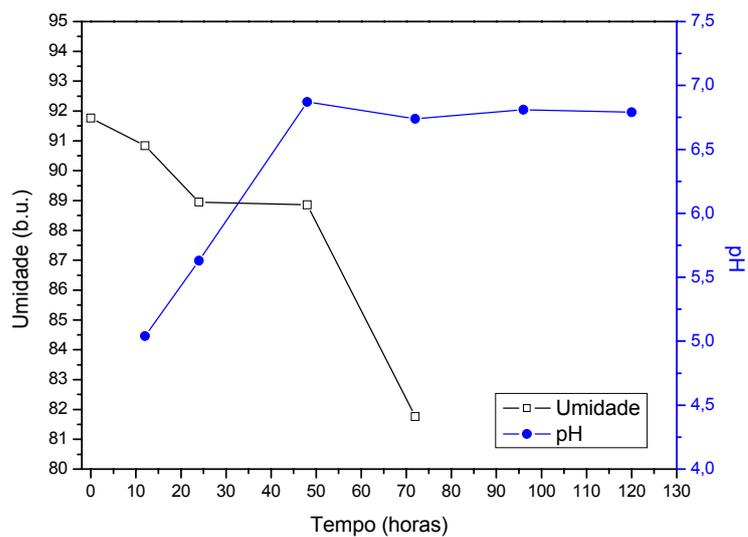


Figura 2A. Variação do pH e umidade em função do tempo de fermentação, a temperatura de 40 °C. Testes preliminares: experimento 2 (5% concentração inicial de leveduras).

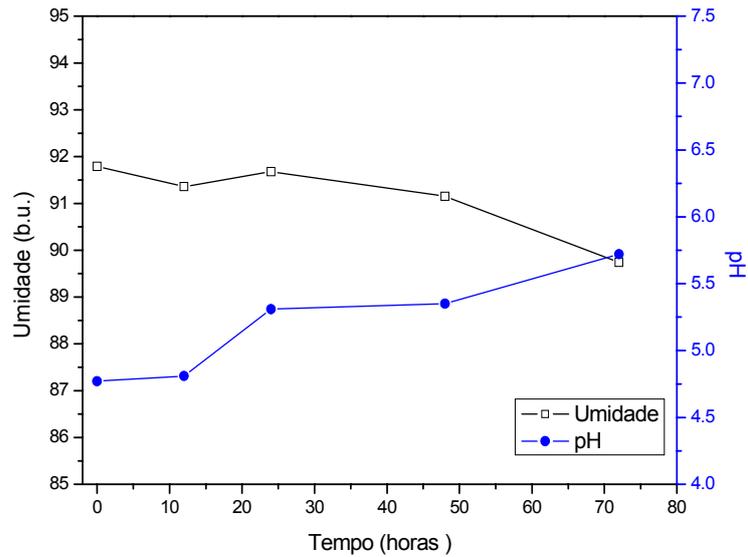


Figura 3A. Variação do pH e umidade em função do tempo de fermentação, a temperatura de 30 °C. Testes preliminares: experimento 3 (1% concentração inicial de leveduras).

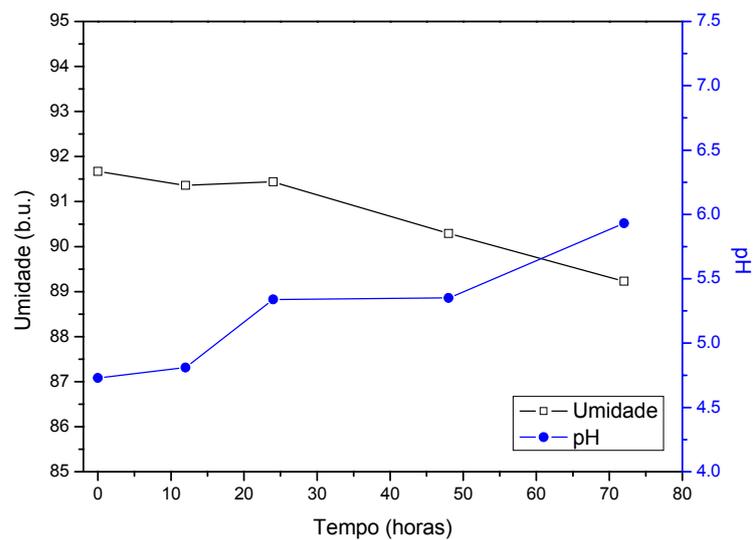


Figura 4A. Variação do pH e umidade em função do tempo de fermentação, a temperatura de 30 °C. Testes preliminares: experimento 4 (5% concentração inicial de leveduras).

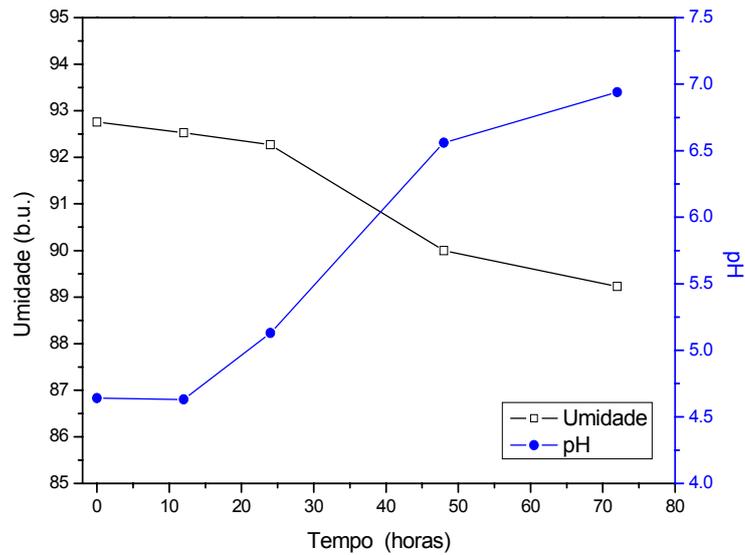


Figura 5A. Variação do pH e umidade em função do tempo de fermentação, a temperatura de 33 °C e 3% concentração inicial de leveduras. Testes preliminares: experimentos 5.

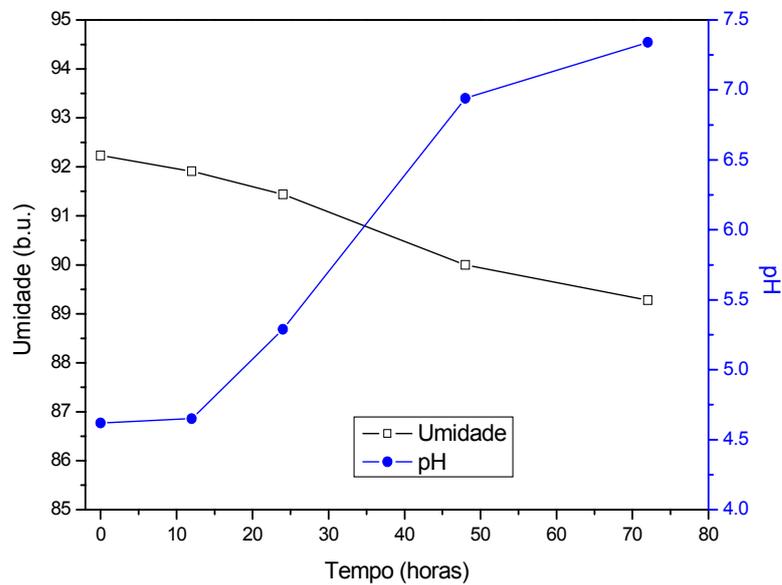


Figura 6A. Variação do pH e umidade em função do tempo de fermentação, a temperatura de 33 °C e 3% concentração inicial de leveduras. Testes preliminares: experimentos 6.

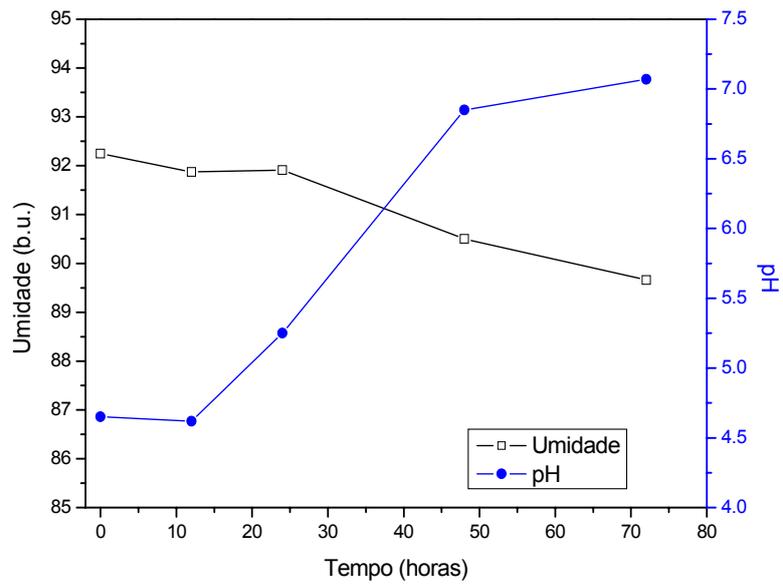


Figura 7A. Variação do pH e umidade em função do tempo de fermentação, a temperatura de 33 °C e 3% concentração inicial de leveduras. Testes preliminares: experimentos 7.

Tabela A3. Resultados da ANOVA para o percentual de proteína bruta. Testes preliminares

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus Liberdade	Média Quadrática	F_{cal}/F_{tab}
Regressão	44,979	3	14,993	0,645
Resíduo	7,513	3	2,504	
Soma total	52,493	6		

Tabela A4. Resultados da ANOVA para o aumento protéico. Testes preliminares

Fontes de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F_{cal}/F_{tab}
Regressão	0,994	3	0,331	0,523
Resíduo	0,020	3	0,068	
Soma total	1,015	6		

Tabela A5. Resultados da ANOVA para o percentual de proteína bruta, no tempo de 8 h. Biorreator bandeja

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	334,87	4	83,72	116,27
Resíduo	0,72	1	0,72	
Total	335,59	5		

Tabela A6. Resultados da ANOVA para o percentual de proteína bruta, no tempo de 24 h. Biorreator bandeja

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	817,15	4	204,29	1511,00
Resíduo	0,13	1	0,13	
Total	817,28	5		

Tabela A7. Resultados da ANOVA para o aumento protéico, no tempo de 8 h. Biorreator bandeja

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	7,24	4	1,81	139,18
Resíduo	0,013	1	0,013	
Total	7,25	5		

Tabela A8. Resultados da ANOVA para o aumento protéico, no tempo de 24 h.
Biorreator bandeja

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	18,21	4	4,55	65,03
Resíduo	0,07	1	0,07	
Total	18,28	5		

Tabela A9. Resultados da ANOVA para o percentual de proteína bruta, no tempo de 2 h. Biorreator tambor rotativo

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	404,36	4	101,09	183,8
Resíduo	0,55	1	0,55	
Total	404,91	5		

Tabela A10. Resultados da ANOVA para o percentual de proteína bruta, no tempo de 6h. Biorreator tambor rotativo

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	1316,91	4	329,23	68,59
Resíduo	4,80	1	4,80	
Total	1321,71	5		

Tabela A11. Resultados da ANOVA para o percentual de proteína bruta, no tempo de 8 h. Biorreator tambor rotativo

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	900,58	4	225,14	60,36
Resíduo	3,73	1	3,73	
Total	904,30	5		

Tabela A.12. Resultados da ANOVA para o percentual de proteína bruta, no tempo de 12 h. Biorreator tambor rotativo

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	597,67	4	149,42	107,49
Resíduo	1,39	1	1,39	
Total	599,06	5		

Tabela A.13. Resultados da ANOVA para o aumento protéico, no tempo de 2 h. Biorreator tambor rotativo

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	7,85	4	1,96	392,5
Resíduo	0,005	1	0,005	
Total	7,85	5		

Tabela A.14. Resultados da ANOVA para o aumento protéico, no tempo de 4 h. Biorreator tambor rotativo

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	27,25	4	6,81	170,3
Resíduo	0,04	1	0,04	
Total	27,29	5		

Tabela A.15. Resultados da ANOVA para o aumento protéico, no tempo de 6 h. Biorreator tambor rotativo

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	29,93	4	7,48	93,53
Resíduo	0,08	1	0,08	
Total	30,01	5		

Tabela A.16. Resultados da ANOVA para o aumento protéico, no tempo de 8 h. Biorreator tambor rotativo

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	18,90	4	4,73	105,03
Resíduo	0,04	1	0,04	
Total	18,95	5		

Tabela A.17. Resultados da ANOVA para o aumento protéico, no tempo de 10 h. Biorreator tambor rotativo

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	11,12	4	2,78	61,78
Resíduo	0,04	1	0,04	
Total	11,17	5		