



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROG. DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA -
PRODUÇÃO VEGETAL**



JOSÉ HARLISSON DE ARAUJO FERRO

**FERMENTAÇÃO SEMISSÓLIDA NO ENRIQUECIMENTO PROTEICO DE
RESÍDUO DE MARACUJÁ PÓS-ENSILADO SOB DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES DE LEVEDURAS**

**RIO LARGO-AL,
2018**

JOSÉ HARLISSON DE ARAUJO FERRO

**FERMENTAÇÃO SEMISSÓLIDA NO ENRIQUECIMENTO PROTEICO DE
RESÍDUO DE MARACUJÁ PÓS-ENSILADO SOB DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES DE LEVEDURAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Alagoas, área de concentração Produção Vegetal, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Eurico Eduardo Pinto de Lemos

Co-orientador: Prof. Dr. Kedes Paulo Pereira

RIO LARGO-AL,
2018

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias
Bibliotecário: Erisson Rodrigues de Santana

F395f Ferro, José Harlisson de Araújo.

Fermentação semissólida no enriquecimento proteico de resíduo de maracujá pós-ensilado sob diferentes concentrações de leveduras. Rio Largo-AL – 2018.
78 f.; il; 33 cm

TESE (Tese de Doutorado – Produção Vegetal) - Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-graduação em Agronomia. Rio Largo, 2018.

Orientador: Prof. Dr. Eurico Eduardo Pinto de Lemos.
Co-orientador: Prof. Dr. Kedes Paulo Pereira

1. Resíduos agroindustriais. 2. Bioconversão proteica. 3. *Passiflora edulis* Sims. I. Título.

*À minha filha, Beatriz Ferro,
à minha avó, Diva Bastos Ferro (in memoriam),
à uma educação profissional de qualidade,*

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, *“luz que me ilumina o caminho e me ajuda a seguir...”*

À minha família, em especial aos meus pais, Sr. Claudio Ferro e D. Ivanete Vilela, e minha amada esposa Apolônia Agnes Bulhões, por todo apoio.

Aos Professores da UFAL, PhD Eurico Lemos e Dr. Kedes Pereira, pelo incentivo e confiança.

Aos amigos do IFAL-Campus Satuba, em especial ao Prof. Dr. Anselmo Aroucha e Prof. Dr. Rafael Pereira, pela presteza e apoio durante esse período de qualificação, concomitante às atividades docentes.

RESUMO

A produção de maracujá no Brasil se destaca como a maior no cenário mundial, sendo a região Nordeste responsável por aproximadamente 70% do volume produzido nacionalmente. A casca do maracujá compõe a maior parte do fruto, embora existam variedades com cascas mais finas, tem-se observado que apenas 1/3 do fruto é composto por polpa, tendo aproveitamento nas indústrias alimentícias, farmacêuticas, de cosméticos ou simplesmente para o consumo *in natura*. Os 2/3 restantes, frequentemente, são descartados na forma de resíduo. Este resíduo, composto principalmente por casca, apresenta características nutricionais que possibilitam o aproveitamento na alimentação animal por ruminantes, além de possuir um aroma agradável e ser altamente palatável. Devido a sua rápida deterioração por microrganismos, maiores informações sobre armazenamento e formas de inclusão em dietas se fazem necessárias para utilização em épocas de escassez de forragem. A tecnologia de bioconversão por fermentação semissólida, associada ao armazenamento deste resíduo na forma de silagem, pode atuar no melhoramento das características nutritivas e no seu armazenamento a baixo custo. Nesse contexto, o presente experimento teve como objetivo avaliar o enriquecimento proteico do resíduo agroindustrial de maracujá, após 60 dias de ensilado, inoculando-se diferentes concentrações de leveduras em sistema de fermentação semissólida. O experimento foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Instituto Federal de Alagoas - Campus Satuba, em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os tratamentos foram constituídos por quatro concentrações de leveduras (0, 2, 4 e 6% de *Saccharomyces cerevisiae*) inoculadas ao resíduo de maracujá (após ter sido ensilado por 60 dias e triturado), quatro intervalos de fermentação (0, 24, 48 e 72 horas) e seis repetições. Realizaram-se amostragens a cada 24 horas para determinação das seguintes variáveis: crescimento de leveduras (UFC.g⁻¹), matéria seca, proteína bruta, aumento proteico, FDN, FDA, material mineral e extrato etéreo. Os dados foram submetidos à análise de variância, pelo Teste F e subsequentes análises de regressão, em casos de significância a 5% de probabilidade. Utilizou-se o *software* estatístico Sisvar, versão 5.0. A concentração de 6% de leveduras proporcionou maior influência no enriquecimento proteico do resíduo de maracujá pós-ensilado em um menor intervalo de tempo fermentação semissólida.

Palavras-chave: resíduos agroindustriais, bioconversão proteica, *Passiflora edulis* Sims.

ABSTRACT

Passion fruit production in Brazil stands out as the largest on the world, with the Northeast region accounting for approximately 70% of the volume produced nationally. The passion fruit peel makes up most of the fruit, although there are varieties with thinner peels. It has been observed that only 1/3 of the fruit is composed of pulp, taking advantage of the food, pharmaceutical, cosmetics or simply for consumption in natura. The remaining 2/3 are often discarded as waste. This residue, mainly composed of fruit peel, presents nutritional characteristics that allow its use for animal feeding by ruminants, besides having a pleasant aroma and being highly palatable. Due to their rapid deterioration by microorganisms, more information about storage and dietary inclusion forms are required for use in times of forage shortage. The technology of bioconversion through semi-solid fermentation, associated to the storage of this residue in the form of silage, can act in the improvement of its nutritional characteristics and storage at low cost. In this context, the present experiment had the objective of evaluating the protein enrichment of passion fruit agroindustrial residue after 60 days of ensiling, inoculated by different concentrations of yeasts in a semi-solid fermentation system. The experiment was carried out in the Laboratory of Microbiology of the Federal Institute of Alagoas - Campus Satuba, in a completely randomized design (DIC). The treatments consisted of four yeast concentrations (0, 2, 4 and 6% of *Saccharomyces cerevisiae*) inoculated with the passion fruit residue (after being silage for 60 days and comminuted), four fermentation intervals (0, 24, 48 and 72 hours) and six replicates. Samples were collected every 24 hours to determine the following variables: yeast growth, dry matter, crude protein, protein increase, NDF, FDA, mineral material and ethereal extract. Data were submitted to analysis of variance, by F-test and subsequent regression analysis, in cases of significance at 5% probability. Statistical software Sisvar, version 5.0 was used. The concentration of 6% of yeasts provided greater influence in the protein enrichment of the post-ensiled passion fruit residue in a shorter period of semisolid fermentation.

Keywords: agroindustrial residues, passion fruit, semi-solid fermentation, protein bioconversion.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Gráfico de crescimento da biomassa de leveduras em função do tempo de FSS, sob diferentes concentrações de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	45
Figura 2 - Gráfico de sólidos solúveis totais (SST) em função do tempo de FSS do substrato_RM e da concentração e leveduras.....	48
Figura 3 - Gráfico de umidade em função da concentração de leveduras inoculadas ao substrato_RM sob FSS	50
Figura 4 - Gráfico de superfície de resposta, relacionando o teor de PB com a concentração de leveduras e o tempo de FSS no substrato_RM	62
Figura 5 - Gráfico de superfície de resposta, relacionando o APR com a concentração de leveduras e o tempo de FSS no substrato_RM.....	63
Figura 6 - Gráficos de FDN no substrato_RM sob FSS com diferentes concentrações de leveduras inoculadas.....	66
Figura 7 - Gráfico de FDA no substrato_RM sob FSS em diferentes concentrações de leveduras (A) e intervalos de tempo (B).	67
Figura 8 - Gráfico de matéria seca do substrato_RM em função do tempo de FSS e diferentes concentrações de leveduras.....	69
Figura 9 Gráfico de material mineral do substrato_RM em função do tempo de FSS.....	70
.....	
Figura 10 Gráfico de extrato etéreo do substrato_RM em função da FSS	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição física de frutos de diferentes cv. de maracujá amarelo	18
Tabela 2 - Composição bromatológica do resíduo de maracujá (casca e semente).....	20
Tabela 3 - Composição percentual de levedura.....	26
Tabela 4 - Composição químico-bromatológica do resíduo agroindustrial de maracujá <i>in natura</i> e após ensilado	28
Tabela 5 - Caracterização bromatológica do resíduo de maracujá <i>in natura</i> e bioconvertido	28
Tabela 6 - Quadrados médios da análise de variância referente à quantidade de leveduras ($\log_{10}$ UFC) presentes no processo de FSS do substrato_RM	44
Tabela 7 - Quadrados médios da análise de variância, referente à quantidade de sólidos solúveis presentes na matéria seca do substrato_RM em função da FSS	47
Tabela 8 - Quadrados médios da análise de variância para a variável “umidade” na silagem de casca de maracujá submetida à FSS	49
Tabela 9 - Quadrados médios da análise de variância referente à quantidade de PB presente no substrato_RM sob FSS por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	61
Tabela 10 - Quadrados médios da análise de variância referente à quantidade de FDN presente no substrato_RM após FSS por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	65
Tabela 11 - Quadrados médios da análise de variância referente à quantidade de FDA presente no substrato_RM após FSS por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	67
Tabela 12 - Quadrados médios da análise de variância referente à quantidade de matéria seca presente no substrato_RM após FSS por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	68
Tabela 13 - Quadrados médios da análise de variância referente à quantidade de material mineral presente no substrato_RM em função da FSS por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	70
Tabela 14 - Equações de regressão quadrática para a variável material mineral em função de diferentes concentrações	

	de leveduras sob FSS em função da FSS por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	71
Tabela 15	Quadrados médios da análise de variância referente à quantidade de extrato etéreo presente no substrato_RM em função da FSS por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	71
Tabela 16	Composição bromatológica dos tratamentos otimizados pelo tempo de FSS com máximo incremento proteico	76

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

APR	Aumento proteico relativo
b.u.	Base úmida
DIC	Delineamento inteiramente casualizado
EE	Extrato etéreo
FBF	Fermento biológico fresco, tipo comercial
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
FSS	Fermentação semissólida
g	grama
h	hora
MM	Material mineral
MS	Matéria seca
PB	Proteína bruta
Substrato_RM	Resíduo agroindustrial de maracujá pós-ensilado
Teste F	Teste estatístico de Fisher
UFC	Unidades formadoras de colônias

SUMÁRIO

1. Introdução.....	14
2. Revisão de Literatura.....	16
2.1. A cultura do maracujá.....	16
2.2. O resíduo de maracujá.....	16
2.3. Composição bromatológica do resíduo agroindustrial de maracujá	19
2.4. O uso do resíduo agroindustrial na alimentação animal	19
2.5. Fermentação Semissólida (FSS).....	22
2.6. Leveduras como promotoras da FSS.....	23
2.7 Condições no ambiente de FSS.....	26
2.8. Resíduo de maracujá, silagem e FSS.....	26
3. Referências.....	29

CAPÍTULO I - Cinética da Fermentação Semissólida em Função de Diferentes Concentrações de Leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) Adicionadas ao Resíduo Agroindustrial de Maracujá Pós-Ensilado

36

1. Resumo.....	37
2. Abstract.....	38
3. Introdução	39
4. Material e Métodos.....	41
4. Resultados e Discussão.....	43
a. Crescimento de leveduras.....	43
b. Consumo de sólidos solúveis.....	45
c. Umidade.....	47
5. Conclusão.....	50
6. Referências.....	51

CAPÍTULO II - Enriquecimento Proteico da Silagem de Resíduo Agroindustrial de Maracujá com Diferentes Concentrações de Leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) em Sistema Fermentação Semissólida.....

53

1. Resumo.....	54
2. Abstract.....	55

3. Introdução	56
4. Material e Métodos.....	58
5. Resultados e Discussão.....	60
a. Proteína Bruta.....	60
b. Fibra em Detergente Neutro (FDN) e Fibra em Detergente Ácido (FDA)	64
c. Matéria Seca.....	67
d. Material Mineral.....	68
e. Extrato Etéreo.....	70
6. Conclusão.....	72
7. Referências.....	73
8. APÊNDICE	75
8.1 Composição bromatológica dos tratamentos otimizados.....	76
8.2 Referências.....	78

1 - Introdução

O Brasil é o maior produtor e também o maior consumidor mundial de maracujá, com produção anual de aproximadamente 703 mil toneladas. Sendo que 70% desse volume produzido está concentrado na região Nordeste (IBGE, 2016).

É uma fruta muito usada na alimentação humana, sendo principalmente comercializada na forma *in natura* e através de produtos industrializados, como polpas, sucos, sorvetes, doces e geleias. A casca do maracujá é rica em pectina, niacina (vitamina B3), ferro, cálcio e fósforo (CÓRDOVA et al., 2005), em estudos recentes têm se comprovado que o seu aproveitamento possibilita substituir determinados ingredientes da ração animal, ou mesmo realiza a sua complementação, favorecendo o desempenho dos animais, além de reduzir os custos de produção (BONFÁ et al., 2015; GUERRA, 2017).

A utilização de resíduos agroindustriais em bioprocessos possibilita sua utilização como substratos alternativos, além de atenuar problemas de poluição que sua disposição poderia causar (MIRANDA, 2014). Assim, os microrganismos utilizados na biossíntese proteica podem ser cultivados em matéria-prima de baixo custo, obtendo alta produção de células ricas em proteínas. Bons resultados sobre a fermentação semissólida de resíduo de maracujá foram obtidos por Oliveira (2007), sendo possível dobrar a quantidade de proteína bruta da casca do maracujá triturada, fazendo-se a inoculação de 3% de fermento biológico e controlando a temperatura de 34 °C, por 48 horas.

A fermentação semissólida através de leveduras, constitui-se numa prática com bom potencial para maximizar o aproveitamento de resíduos agroindustriais para alimentação animal, melhorando suas propriedades nutricionais e agregando valor. Outra grande vantagem da produção de proteína unicelular é a capacidade dos microrganismos crescerem rapidamente, com grande rendimento dessas células (PELCZAR e CHAN, 1981).

As leveduras, principalmente *Saccharomyces cerevisiae*, têm sido usadas na alimentação animal há várias décadas e são consideradas fonte de proteínas de alta qualidade, de vitaminas do complexo B e minerais, especialmente selênio e zinco (QUEIROZ et al., 2004). Além do aumento na qualidade nutritiva, pesquisas têm demonstrado que as *Saccharomyces cerevisiae* podem elevar a taxa de digestão da celulose e o fluxo de proteína microbiana, o que resulta em maior ingestão de

matéria seca e, portanto, melhor desempenho (WALLACE, 1994; QUEIROZ et al. 2004).

A casca do maracujá contém mais de 80% de umidade, é altamente perecível, e por isso exige cuidados na sua conservação e uma das formas mais econômicas de se armazenar este subproduto é através da silagem. Lira Júnior (2011) verificaram que a densidade da casca de maracujá promove fácil compactação, o que favorece o processo fermentativo anaeróbico. Além disso, tem 69,26% de digestibilidade aparente da matéria seca e 87,34% de digestibilidade da proteína bruta (REIS et al., 2001). O resíduo agroindustrial de maracujá pode ser ensilado com sucesso em silos tipo trincheira, superfície ou em sacos de polietileno, desde que haja possibilidade de drenar o excesso de umidade. Embora possua baixo teor de matéria seca, a acidez da casca de maracujá (pH próximo a 4,0), torna o meio impróprio para o crescimento de microrganismos patogênicos como *Clostridium*.

A combinação entre armazenamento por silagem e enriquecimento nutricional por fermentação semissólida, constitui numa alternativa com potencialidade para o aproveitamento de resíduos abundantes nas agroindústrias distribuídas em todo o país, com possíveis benefícios econômicos, sociais e ambientais.

Assim, com o objetivo avaliar o enriquecimento proteico do resíduo agroindustrial de maracujá através da bioconversão por leveduras, realizou-se o presente experimento com diferentes concentrações de *Saccharomyces cerevisiae*, inoculadas ao resíduo agroindustrial do maracujá pós-ensilado, sob sistema de fermentação semissólida.

2. Revisão de Literatura

2.1. A cultura do maracujá

O maracujá é um fruto que pertence à família das *Passifloraceas*, originário da América Tropical, possuindo mais de 150 espécies utilizadas para diversas finalidades, alimentícias, medicinais e ornamentais. Apesar da grande variabilidade de espécies desta família, o maracujá amarelo ou azedo representa quase que a totalidade do volume comercializado no mundo (PIRES, 2011).

O Brasil é o maior produtor e também o maior consumidor mundial de maracujá, com produção de aproximadamente 703 mil toneladas. Sendo que 70% desse volume produzido está concentrado na região Nordeste (IBGE, 2016). É uma fruta muito usada na alimentação humana, sendo principalmente comercializado na forma *in natura* e através de produtos industrializados, como polpa, sucos, sorvetes, doces e geleias. Também é utilizado pela indústria farmacêutica e de cosméticos, isso graças ao elevado valor nutritivo dos frutos, ricos em cálcio, fósforo, vitaminas A e C, e à presença de substâncias como a passiflorina e a maracugina, usadas como calmante (GRECO, 2014; LIMA, 2004).

A produtividade pode ultrapassar 45 toneladas por hectare, se bem manejado (MELETTI, 2011). O aumento no potencial produtivo pode ser explicado, de um lado, pela integração de bons produtores à cultura, adoção de tecnologias de produção recomendada para a cultura, utilização de sementes selecionadas e cultivares híbridas lançadas pelo Instituto Agrônômico em 1999, de alta produtividade (MELETTI, 2000), e pela EMBRAPA, em 2008, somadas a qualidade das mudas na instalação dos pomares.

A crescente produção do maracujá é decorrente do rápido retorno do investimento que essa cultura proporciona em virtude da precocidade reprodutiva e também de longos períodos de safra, variando entre oito meses no Sudeste, dez meses no Nordeste e doze meses no Norte, com isso, promove um fluxo de renda mensal equilibrado, que pode contribuir para elevar o padrão de vida nas pequenas propriedades rurais de exploração familiar (PIRES et al., 2011).

2.2. O resíduo de maracujá

Uma grande proporção de casca é encontrada no fruto, embora existam variedades com cascas mais finas, os frutos destinados às indústrias têm

apresentado rendimento de polpa entre 36 e 42% (ANDRADE NETO et al., 2015), portanto, a maior parte do fruto é descartada.

A industrialização do maracujá para obtenção de polpa concentrada (50 – 60 °Brix), gera por ano cerca de 54 mil toneladas de resíduos, tais como sementes e cascas (LÓPEZ-VARGAS et al., 2013). De acordo com Nascimento et al. (2012), devido à grande quantidade de resíduos gerados pelas agroindústrias, muitos estudos vêm sendo desenvolvidos para o beneficiamento de tal subproduto em diversas aplicações.

O desenvolvimento de novos produtos, utilizando os resíduos da indústria de suco de maracujá, pode ser uma alternativa viável e rentável, antes subaproveitada. Produtos como pectina, farinha de casca e óleo de sementes já são obtidos por alguns setores industriais (OLIVEIRA, 2009).

A casca do maracujá é rica em pectina, niacina (vitamina B3), ferro, cálcio e fósforo (CÓRDOVA et al., 2005). Estudos recentes têm comprovado que o aproveitamento da casca do maracujá possibilita substituir determinados ingredientes da ração animal, ou mesmo realiza a sua complementação, favorecendo o desempenho dos animais, além de reduzir os custos de produção (Bonfá et. al, 2015; Guerra, 2017).

Tabela 1 - Composição física de frutos de diferentes cv. de maracujá amarelo

Genótipos	Peso do fruto	Massa da Polpa	Massa da casca	Massa da semente	Rendimento de polpa
		(g)			(%)
BRS Sol do Cerrado	196,96	79,05	86,27	18,81	40,14
BRS Ouro Vermelho	186,11	68,62	85,13	13,01	36,87
BRS Gigante Amarelo	167,38	67,97	59,42	14,97	40,61
FB 200	166,08	70,38	68,51	15,64	42,38

Adaptado de Silva et al. (2017)

2.3. Composição bromatológica do resíduo agroindustrial de maracujá

A pectina presente na casca é um carboidrato solúvel de alta digestibilidade e elevada disponibilidade para os microrganismos ruminais (ROGÉRIO, 2005), que pode favorecer à maior produção de ácidos graxos voláteis no rúmen e consequentemente elevar o aporte energético para os ruminantes.

A pectina encontrada no maracujá tem a característica de produzir maiores concentrações do ácido graxo volátil acetato, que tem como importância manter o

pH ruminal (HALL, 2001). Desta forma, os alimentos concentrados ricos em carboidratos solúveis como a pectina, podem representar uma importante fonte de energia para os animais ruminantes, pelos benefícios trazidos ao ambiente ruminal, sem reduzir drasticamente o pH como ocorre naturalmente em dietas ricas em amido, proporcionando melhor aproveitamento dos carboidratos fibrosos dos alimentos volumosos (HENRIQUE et al., 2003; ASSIS, 2004).

O consumo voluntário de matéria seca é um dos principais componentes do processo produtivo sendo considerado o principal determinante do consumo de nutrientes digestíveis e da eficiência com que tais nutrientes são utilizados nos processos metabólicos do animal (VALADARES FILHO e MARCONDES, 2009).

Ao avaliarem o resíduo de maracujá desidratado como alimento exclusivo para ovinos, tipo feno, Lousada Júnior et al. (2005), encontraram consumo de matéria seca igual a 1200,9 g/animal/dia. Valores próximos também foram encontrados por Sena (2011), 1135,62 g/animal/dia. Parente et al. (2009) afirmaram que a inclusão de resíduos de maracujá na dieta de ovinos confinados propiciou ganho de peso considerável.

Em relação à digestibilidade aparente do resíduo agroindustrial de maracujá desidratado, a média encontrada por Sena (2011) foi 88,02% e para a silagem deste resíduo Reis et al. (2000) encontram 69,26% de digestibilidade.

Cruz et al. (2011) ao avaliarem a adição de 30% de casca de maracujá à silagem de capim elefante na dieta para cordeiros, verificaram 71,2% digestibilidade da MS, aumento no consumo de MS, de PB e FDN.

A digestibilidade aparente de um alimento é considerada a proporção do que foi ingerido que não foi excretado nas fezes, não considerando a matéria metabólica fecal (BERCHIELLI et al., 2006), porém a digestibilidade de um alimento pode variar em função do próprio alimento, do animal e das condições de alimentação (MERTENS, 1987). Considerando a digestibilidade mínima satisfatória 50%, conforme Milford e Minson (1966), para que não haja prejuízos para o desempenho animal, entende-se que o resíduo de maracujá possui um grande potencial para alimentação de ruminantes.

VIEIRA et al. (1999) determinaram a composição bromatológica da casca da fruta do maracujá amarelo em comparação com o maracujá roxo e o maracujá-doce. Os resultados demonstraram que o maracujá roxo foi o que apresentou maior quantidade de matéria seca, 17,57%, e o amarelo apresentou a menor, 11,21%.

Para a proteína bruta houve diferença entre maracujá amarelo (9,82%) e o doce (7,53%). Quanto à FDN, FDA não houve diferença entre as espécies, obtendo-se valores na faixa de 37,69 a 44,16% e entre 30,06 – 35,85% para FDN e FDA, respectivamente.

Na tabela 2 encontra a composição bromatológica do resíduo de maracujá, descrita por Santos et al. (2017):

Tabela 2 – Composição bromatológica do resíduo de maracujá (casca e semente):

Componente	Casca	Sementes
Proteína bruta (%)	9,10	17,79
Extrato etéreo (%)	2,50	21,55
Fibra em detergente neutro (%)	44,17	61,10
Fibra em detergente ácido (%)	35,40	58,80
Energia bruta Kcal/100g	300,82	427,35
Cinzas (%)	4,89	2,67
Pectina total (mg/100g)	16289,72	3316,34
Pectina solúvel (mg/100g)	5980,83	1700,18
Solubilidade da pectina (%)	36,72	51,27

Embora a composição nutricional seja muito atrativa para alimentação animal, um fator negativo é a alta umidade que propicia a rápida deterioração deste resíduo por microrganismos. A umidade da casca pode chegar a 92% (Oliveira, 2007) , implicando em um sério problema de rendimento para alimentação de animais de grande porte e para segurança silagem, pois o alto teor de umidade possibilita a ocorrência de fermentações secundárias e indesejáveis, pela ação de bactérias do gênero *Clostridium* produtoras de ácido butírico (LIRA JÚNIOR, 2011).

2.4. O uso do resíduo agroindustrial na alimentação animal

A geração de resíduos e subprodutos é recorrente em qualquer setor produtivo e o grande desafio da humanidade para as próximas décadas está em promover o equilíbrio da produção de bens e serviços, crescimento econômico, igualdade social e sustentabilidade ambiental (PINTO et al., 2005).

Grandes quantidades de resíduos geradas podem acarretar problemas de poluição e desperdício de biomassa contendo nutrientes de alto valor. Resíduos agroindustriais podem ser utilizados com êxito na produção de proteína unicelular através do processo de fermentação semissólida por leveduras. Segundo Oliveira

(2007), geralmente são utilizados como substratos resíduos de frutas ou subprodutos, que têm baixo ou nenhum valor comercial, mas são ótimas fontes de nutrientes para microrganismos, que ao se multiplicarem, promovem enriquecimento proteico do material, com grande potencial para alimentação de animais ruminantes.

A geração de proteína celular para consumo animal está sendo considerada como uma via de produção de alimentos alternativos, a qual elimina as restrições sazonais e de variações climáticas que existem em muitas safras agrícolas, já que a seleção de microrganismos pode ser baseada no valor nutricional e no conteúdo proteico (ARAÚJO, 2009).

Dentre os fatores que contribuem para os baixos índices de produtividade da pecuária, a escassez de alimentos em períodos de longas estiagens, destaca-se como a principal causa. A suplementação proteica através de concentrados comerciais onera substancialmente os custos de produção e pode tornar a atividade antieconômica. Nesse contexto, o fornecimento de alimentos que passaram pelo processo de enriquecimento proteico por microrganismos não só pode ser uma saída para obter redução de custo na alimentação animal, como podem diminuir problemas de poluição gerados pela sua disposição no ambiente (MIRANDA, 2014).

Frazier e Westhoff (1993) consideraram as seguintes vantagens, quanto ao uso da proteína microbiana: possibilidade de utilizar alimentos não consumidos pelo homem como substrato para produzir proteína microbiana; elevado teor de proteína proveniente de microrganismos; rápido aumento do número de células, com capacidade de reprodução em curto espaço de tempo; continuidade do processo de produção de proteína microbiana independentemente de fatores climáticos; aproveitamento de uma grande diversidade de resíduos agroindustriais como substratos para a produção de proteína unicelular.

As leveduras podem atuar positivamente sobre o consumo e o desempenho de animais ruminantes (DESNOYERS et al., 2009). O seu uso como promotor da digestão ruminal e da imunidade, em substituição a promotores químicos de desempenho, é coerente à tendência de mercado, na qual os consumidores estão mais exigentes por produtos naturais, pois as leveduras são reconhecidamente identificadas como um aditivo seguro (GOMIDE, 2012).

Além do alto teor proteico, entre 30% e 70%, juntamente as outras características nutricionais favoráveis, como vitaminas do complexo B (B1, B2, B6, ácido pantoico, niacina, ácido fólico e biotina), minerais essenciais ao organismo

animal (como o selênio), esses microrganismos possuem espessa parede celular, composta por carboidratos e elevado teor de ácidos nucléicos (YAMADA et al., 2003; SGARBIERI et al., 1999).

Vários trabalhos envolvendo a fermentação semissólida de resíduos agroindustriais vêm sendo desenvolvidos objetivando a otimização de processos biotecnológicos através da bioconversão de açúcares em biomassa microbiana para alimentação de ruminantes (SILVA et al., 2012; SOUZA et al., 2016; SANATANA NETO et al., 2017).

A elevada umidade encontrada no resíduo agroindustrial do maracujá, torna o material muito susceptível a deterioração por microrganismos e inviabiliza o aproveitamento por longos períodos, quando não é realizado um tratamento adequando para o armazenamento. A silagem, nesse contexto, está inserida como uma alternativa para o armazenamento desses resíduos agroindustriais a baixo custo.

Segundo Muck (2001), a matéria seca da silagem deve estar entre 30 e 50%, pois quantidades inferiores a 30% propiciam perdas por efluentes e fermentação por clostrídios e acima de 50% ocorrem danos por calor e deterioração devido à dificuldade de compactação. Porém, o baixo pH da casca do maracujá, pH 4,08 – segundo Oliveira (2007), é desfavorável ao crescimento de bactérias do gênero *Clostridium*, que necessitam de pH superior a 4,5 (BERNARDES, 2006).

Reis et al. (1993), ao utilizarem o resíduo de maracujá puro na forma de silagem, na alimentação de ovinos, verificaram que os animais não apresentaram desempenho satisfatório, porém, quando misturado com capim-elefante, em diferentes proporções, observaram que esse resíduo é uma alternativa viável como alimento para ruminantes.

Neiva Júnior (2005) constatou que a silagem com 100% de resíduo de maracujá, assim como aquelas acompanhadas de aditivos, apresentaram boas características para alimentação animal, sendo uma alternativa viável para regiões com disponibilidade desses resíduos.

Comparando a composição bromatológica da silagem de resíduo do fruto de maracujá com a silagem de milho, observou que o teor de FDN da silagem de resíduo do fruto de maracujá é ligeiramente inferior, e o teor de FDA é superior ao da silagem de milho. Esse fato decorre do maior teor de celulose e lignina e menor

teor de hemicelulose da silagem de resíduo do fruto de maracujá em relação à silagem de milho (NEIVA JÚNIOR, 2005).

Outros trabalhos também têm demonstrado a viabilidade do processo de ensilagem do resíduo do maracujá (GUERRA, 2017; LIRA JÚNIOR, 2011).

2.5. Fermentação Semissólida (FSS)

A fermentação semissólida ou fermentação em estado sólido, é o processo fermentativo que ocorre na ausência ou próximo da ausência de água livre, usando um sólido natural como substrato ou suporte inerte (PANDEY, 2002).

Segundo Durand e Chéreau (1988), define-se como fermentação semissólida um sistema com matriz de partículas sólidas, uma fase líquida ligada a elas e uma fase gasosa entre as mesmas. Este processo envolve o crescimento de microrganismos em materiais sólidos nos quais não há líquido livre. O teor de água está presente no meio na forma complexada ou adsorvida à matriz sólida (CORREIA, 2004).

De acordo com Pinto (2005), a FSS apresenta as seguintes características:

- A fase sólida atua como fonte de carbono, nitrogênio e demais componentes, além de servir como suporte para o crescimento das células microbianas;
- O ar, necessário ao desenvolvimento microbiano, deve atravessar os espaços vazios do meio a pressões relativamente baixas. O substrato não deve apresentar aglomeração das suas partículas individuais;
- O crescimento microbiano ocorre em condições mais próximas às dos habitats naturais;
- O meio apresenta alta heterogeneidade e os substratos não estão completamente acessíveis ao microrganismo.

A água está envolvida no desenvolvimento de biomassa e reações metabólicas, atividades enzimáticas e transporte de gás, nutrientes e metabólitos extra-celulares (OLIVEIRA, 2007). De todos os parâmetros que influenciam o processo fermentativo, a água apresenta papel de destaque na FSS, em virtude do seu elevado grau de interação com as substâncias que compõem a fase sólida (GERVAIS e MOLIN, 2003).

A água está relacionada a dois parâmetros de grande importância para os microrganismos: o primeiro, a umidade, representada pela porcentagem de água na massa total do meio; o segundo, a atividade de água (a_w), que é um parâmetro

termodinâmico relacionado ao potencial químico da água, ou seja, a quantidade de moléculas de água que se encontram prontamente disponíveis para os microrganismos no substrato (PINTO, 2005).

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). Já a atividade de água mínima é de 0,7 para fungos filamentosos, 0,8 para leveduras e 0,9 para bactérias (RAMANA et al., 1993).

Água em excesso no substrato reduz a porosidade, implicando em uma menor difusão de oxigênio no interior do meio e consequente decréscimo de trocas gasosas, havendo assim fermentação alcoólica por leveduras, onde a maior parte dos açúcares é convertida em etanol e gás carbônico, além de aumentar o risco de contaminação, principalmente por bactérias (LONSANE et al., 1985). Segundo Viniegra-González (1997), a fermentação semissólida possui várias vantagens quando comparada ao processo de fermentação submersa, devido aos seus aspectos físico-químicos, principalmente pela 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 rejeitos (resíduos).

A aeração é importante para controle da temperatura no leito de FSS, remoção do calor e fornecimento de oxigênio às células dos microrganismos responsáveis pela bioconversão (SANTOS, 2007). Em sistemas de FSS, geralmente são utilizados biorreatores, onde a matéria-prima, sob condições satisfatórias, é convertida a um produto desejado. As principais funções dos biorreatores consistem em auxiliar na aeração, dispersão do gás-líquido, homogeneização e a transferência de calor e massa.

Segundo Oliveira (2007), o biorreator deve proporcionar retenção do substrato a um custo relativamente baixo, prevenir a entrada de contaminantes no processo de FSS, ser efetivo na regulação da aeração, da mistura e remoção do calor.

2.6. Leveduras como promotoras da FSS

A eficiência da conversão proteica por leveduras depende de fatores como: temperatura, suprimento de oxigênio e disponibilidade de nutrientes. Em condições de laboratório pesquisadores têm identificado que o máximo enriquecimento proteico de resíduos agroindustriais ocorre próximo das 48 horas FSS, obtendo-se resultados

superiores a 100% de aumento de proteína bruta (ALEXANDRE et al., 2013; LUCIANO et al., 2014; OLIVEIRA, 2007; ARAÚJO et al., 2017).

A *Saccharomyces cerevisiae* é a levedura mais importante para o setor industrial. Esta espécie possui organismo microscópico de célula única, viva, e tem as mesmas funções de qualquer outro ser vivo: respira, alimenta-se, excreta, dentre outras funções vitais (BRUNINI, 2002).

É um fungo unicelular, eucarioto, heterotrófico, aeróbio ou anaeróbio facultativo. Ocorre na natureza, em especial na superfície de plantas. Em relação a sua demanda nutricional, requerem uma fonte de carbono, vários minerais na forma reduzida, fontes de nitrogênio e vitaminas. O gênero *Saccharomyces* apresenta células esféricas ou helicoidais. Pertencem a esse gênero: *S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, dentre outras (BAMFORTH, 2005).

Os produtos finais do metabolismo do açúcar irão depender das condições ambientais em que a levedura se encontra. Assim, em aerobiose, o açúcar é transformado em biomassa, CO₂ e água, e, em anaerobiose, a maior parte é convertida em etanol e CO₂, processo denominado de fermentação alcoólica.

Os carboidratos considerados substratos para a fermentação, tanto podem ser endógenos (constituintes da levedura, como glicogênio e trealose) como exógenos (sacarose, glicose, frutose e outros), estes últimos fornecidos à levedura (LIMA, 2001).

A fermentação ocorre em virtude da levedura ser uma célula heterotrófica, isto é, incapaz de utilizar energia solar ou compostos inorgânicos simples e obter a energia para sintetizar os componentes mais complexos. Portanto, a levedura executa o metabolismo fermentativo quando os carboidratos estiverem no seu interior na forma de monossacarídeos (ANGELIS, 1986).

A composição química e o valor nutritivo da levedura dependem de uma série de fatores, destacando-se a natureza do substrato, grau de aeração do meio, espécie de levedura, tratamento da massa fluida e concentração de sais (KRIDER et al., 1982). Valduga et al. (2017) avaliaram a composição química da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, tipo comercial e os resultados estão descritos na tabela 3:

Tabela 3 – Composição percentual de levedura

Componente	Levedura
Proteína	42,74% $\pm$ 0,05
Lipídeos totais	1,54% $\pm$ 0,16
Cinzas	1,74% $\pm$ 0,13
Carboidratos totais	53,67

Médias acompanhadas do respectivo desvio padrão. Adaptado de Valduga et al. (2017)

Os carboidratos representam de 45 a 55% da massa da levedura, sendo compostos em média por 33% de trealose, 27% de glucanas, 21% de mananas e 12% de glicogênio (ROSE e HARRISON, 1970).

As leveduras resultantes dos processos exclusivamente destinados a sua propagação são denominados leveduras primárias, que é o caso de fermento biológico, enquanto as leveduras obtidas como subprodutos de outras indústrias fermentativas são denominadas de leveduras secundárias (SANTIN, 1996).

Estudos apontam que as leveduras, devido a sua alta afinidade com o oxigênio, melhoram o ambiente do rúmen para os microrganismos anaeróbicos (bactérias celulolíticas) através da remoção do oxigênio, favorecendo assim a melhor degradação de fibras, podendo beneficiar a ingestão de matéria seca (ABUD, 2012).

O oxigênio entra no rúmen (entre 60 a 100 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$) através do alimento e da saliva, e é tóxico às bactérias anaeróbicas, além de reduzir a adesão das bactérias celulolíticas à celulose. Como a atividade respiratória de *Saccharomyces cerevisiae* (200 a 300 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$) é maior que a concentração de O_2 que entra no fluido ruminal, pequenas quantidades de leveduras (até 20 g/animal/dia) podem trazer resultados satisfatórios no desempenho de vacas leiteiras (NEWBOLD et al., 1996).

Assim, culturas microbianas vivas de *Saccharomyces cerevisiae* e de seus respectivos extratos têm sido utilizadas como suplementos alimentares para ruminantes em escala comercial, com evidentes resultados positivos. Alguns estudos têm demonstrado que esses aditivos microbianos podem melhorar a produtividade de ruminantes em cerca de 7 a 8% (MARTIN e NISBET, 1992; Wallace, 1994). Abud (2012), ao avaliar o efeito da suplementação com leveduras para vacas holandesas sobre a produção de leite, identificou que houve maior ganho

em produção ao ser ministrado seis gramas de *Saccharomyces cerevisiae* misturada ao concentrado.

2.7. Condições no ambiente de FSS

A temperatura é um dos fatores que mais interfere na atividade metabólica dos microrganismos. Pesquisas utilizando isotermas de dessorção têm indicado que temperaturas entre 27 e 35 °C propiciaram os melhores resultados na FSS de resíduos agroindustriais utilizando *Saccharomyces cerevisiae*.

Santos et al. (2010), obtiveram bons resultados de enriquecimento proteico dos resíduos do pedúnculo do caju utilizando a temperatura de cultivo de 33°C em estufa. Em pesquisas conduzidas por Oliveira (2007), utilizando o resíduo de maracujá com substrato em FSS, a temperatura de 34°C, elevou-se a quantidade de 7,9% de proteína para 17,2% , em 48 horas, fazendo-se a inoculação com 3% de leveduras.

Oliveira Júnior et al. (2017), ao avaliarem o enriquecimento proteico da palma forrageira por FSS, obtiveram resultados satisfatórios em a temperatura de 35°C.

Em relação ao pH, sabe-se que as fermentações se desenvolvem numa ampla faixa de valores, sendo adequada a faixa entre 4 e 5. Nos mostos industriais, os valores de pH geralmente se encontram na faixa de 4,5 a 5,5. A tolerância à acidez é mais uma característica importante encontrada nas leveduras (LIMA et al., 2001).

Durante a FSS o pH pode sofrer mudanças devido ao consumo do substrato (por hidrólise proteica, por exemplo) ou produção de metabólitos, como ácidos orgânicos. De acordo com Lonsane et al. (1985), a variação brusca do pH 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.

2.8. Resíduo de maracujá, silagem e FSS

A silagem é produto do processo de conservação de alimentos suculentos, armazenados em silos sob pressão, na ausência de ar, conservando a maior parte de sua umidade. O processo não acrescenta valores nutricionais aos alimentos ensilados, ao contrário, espera-se algumas perdas, cuja intensidade está relacionada com a técnica de ensilagem e características químicas do material ensilado (LIRA JÚNIOR, 2011).

A alta umidade presente na massa ensilada favorece a ocorrência de maiores perdas de nutrientes por lixiviação e consequentemente dificultam o desenvolvimento de microrganismos lácticos e a produção de ácido láctico. Neste sentido, a estabilização fermentativa das silagens fica comprometida devido à constante degradação promovida por bactérias heterofermentativas, causando redução na qualidade das silagens produzidas.

Tabela 4 – Composição químico-bromatológica do resíduo agroindustrial de maracujá *in natura* e após ensilado:

Análise	<i>in natura</i>			Silagem		
	a	b	c	a	b	c
Matéria seca (%)	15,07	24,7	10,5	21,97	23,3	9,75
Proteína bruta (%)	13,4	15,3	10,0	14,3	16,8	11,66
Extrato etéreo (%)	6,51	-	-	12,14	-	1,41
FDN (%)	52,72	50	41,63	60,77	54,4	46,74
FDA (%)	48,75	-	28,46	58,56	-	34,07
Lignina (%)	-	14,8	4,26	-	18	6,61
Material mineral (%)	-	-	8,98	-	-	9,63

Fonte: a - Santos (1995); b - Korndorfer et al. (1998); c - Lira Jr. (2011)

Já o processo de FSS promove o enriquecimento nutricional do substrato. Segundo Oliveira (2007), a FSS do resíduo de maracujá através de leveduras promoveu incrementos melhorias nutricionais, principalmente no teor de proteína bruta (tabela 5).

Tabela 5 – Caracterização bromatológica do resíduo de maracujá *in natura* e bioconvertido

	Umidade (%)	Proteína bruta (%)	FDN (%)	FDA (%)	Material mineral (%)
<i>in natura</i>	91,7	7,88	49,02	46,35	7,94
Bioconvertido	-	18,72	50,97	48,71	8,67

Fonte: Adaptado de Oliveira (2007)

Embora a combinação dos dois processos de fermentação sejam complementares, a silagem e a fermentação semissólida, onde um resulta em melhor acondicionamento do alimento para o fornecimento aos animais por longos

períodos e o outro tenha atuação na qualidade nutricional, o mesmo resíduo de maracujá servirá de substrato para microrganismos em ambos os processos. Assim, antes da FSS o pré-tratamento deve ser realizado com o objetivo de reduzir o tamanho das partículas e aumentar a área superficial para melhor disposição dos nutrientes para as leveduras e, conseqüentemente, obter maior grau de transformação (SCHIMIDELL et al., 2001).

3. Referências

- ABUD, G. C. **Levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) na alimentação de vacas da raça Holandesa**. 2012. 35 f. Dissertação (Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias)- Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP, 2012.
- ALEXANDRE, H. V.; SILVA, F. L. H.; GOMES, J. P.; SILVA, O. S.; CARVALHO, J. P. D.; LIMA, E. E. Cinética de secagem do resíduo de abacaxi enriquecido. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.17, n.6, p.640–646, 2013.
- ANDRADE NETO, R. C. et al. Caracterização química, rendimento em polpa bruta e suco de diferentes genótipos de maracujazeiro azedo. In: ENCONTRO NACIONAL DA AGROINDÚSTRIA, 2015, Bananeiras-PB. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/138700/1/25910.pdf>> Acesso em: 25/01/2018.
- ANGELIS, D.F. **Emprego de Leveduras em Culturas Puras e Mista Objetivando o Aproveitamento da Vinhaça**. Brasil Açucareiro, Rio de Janeiro, v. 94, n.6, p. 406, 1986.
- ARAÚJO, L. F. et al. **Enriquecimento Nutricional da Casca da Mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) Por Processo Biotecnológico Destinado à Alimentação Animal**. Revista Raízes e Amidos Tropicais, v. 13, nº 1, p. 18-30, 2017.
- ARAÚJO, L. F. et al. **Enriquecimento protéico de alimentos por levedura em fermentação semissólida: alternativa na alimentação animal**. Revista Tecnologia e Ciência Agropecuária., João Pessoa, v.3, n.3, p.47-53, 2009.
- ASSIS, A.J. et al. **Polpa cítrica em dietas para vacas em lactação. 1. Consumo de nutrientes, produção e composição do leite**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.33, n.1, p.242-250, 2004.
- BAMFORTH, C.W. **Food, Fermentation and micro-organisms**. 1. ed. California-CA: Blackwell Science, 2005. 236 p.
- BERCHIELLI, T.T; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. 1. ed. Jaboticabal-SP: FUNEP, 2006. 583 p.
- BERNARDES, T. F. **Controle da deterioração aeróbia da silagem**. 2006. 103 f. Tese (Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias)- Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP, 2006.
- BONFÁ, C.S.; CASTRO, G.H.F.; VILLELA, S.D.J.; SANTOS, R.A.; EVANGELISTA, A.R.; JAYME, C.G.; GONÇALVES, L.C.; PIRES NETO, O.S.; BARBOSA, J.A.S. **Silagem de Capim-Ellefante Adicionada de Casca de Maracujá**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.67, n.3, p.801-808, 2015.

BRUNINI, M.A., et al. **Caracterização Física e Química de Acerolas Provenientes de Diferentes Regiões de Cultivo**. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 26, p. 486-489, 2004.

CÓRDOVA, K.R.V. et al. **Características Físico-Químicas da Casca do Maracujá Amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa* Degener) Obtida por Secagem**. Curitiba-PR: Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, 2005. 221-230 p.

CORREIA, R. T. P. **Estudo do Cultivo Semissólido em Resíduo de Abacaxi por *Saccharomyces cerevisiae* e *Rhizopus oligosporus***. 2004. 163 f. Tese (doutorado), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química- Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN, 2004.

CRUZ, B. C. C. et al. **Silagens de Capim Elefante com Diferentes Proporções de Casca Desidratada de Maracujá em Dietas de Cordeiros Santa Inês**. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, Salvador, v.12, n.1, p.107-116, jan/mar, 2011.

DESNOYERS, M. et al. **Meta-Analysis of the Influence of *Saccharomyces cerevisiae* Supplementation on Ruminant Parameters and Milk Production of Ruminants**. Journal of Dairy Science, Albany, v. 92, n. 4, p. 1620-1632, 2009.

DORTA, B.; BOSCH, A.; ARCAS, I.; ERTOLA, R. **Water Balance in Solid State Fermentation Without Forced Aeration**. Enzyme and Microbial Technology, v. 16, n.7, p.562-565, 1994.

DURAND, A.; CHÉREAU, D. A new pilot reactor for solid-state fermentation: Application to the protein enrichment of sugar beet pulp. [S.l.]: Biotechnology And Bioengineering, 1988. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18584634>>. Acesso em: 15 nov. 2017.

FRAZIER, W.C; WESTHOFF, D.C. **Microbiologia de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993. 274-300 p.

GERVAIS, P.; MOLIN, P. **The Role Water in Solid-State Fermentation**. Biochemical Engineering Journal, v. 13, p. 85-101, 2003.

GOMIDE, D. R. **Resposta Digestiva de Bovinos a Doses de Levedura autolisada**. 2012. 58 f. Dissertação (mestrado), Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias - Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2012.

GRECO, S. M. L. **Caracterização Físico-Química e Molecular de Genótipos de Maracujazeiro Azedo Cultivados no Distrito Federal**. 2014. 149 f. Tese (doutorado)- Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2014.

GUERRA, I. E. et al. **In Situ Ruminant Degradability of Savoy Grass (*Panicum maximum*) Silages with Different Levels of Passion Fruit (*Passiflora edulis*) Peel Inclusion**. Global Advanced Research Journal of Agricultural Science, v. 6, p. 26-30, 2017.

HALL, M. B. Recent Advanced in Non-NDF Carbohydrates for the Nutrition of Lactating Cows, In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM BOVINOS DE LEITE, 2. 2001. Lavras. Anais, Lavras: UFLA-FAEPE, v.11, p.139-148. 2011.

HENRIQUE, W. et al. Digestibilidade e Balanço de Nitrogênio em Ovinos Alimentados à Base de Dietas com Elevado Teor de Concentrado e Níveis Crescentes de Polpa Cítrica Peletizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília-DF, v.32, n.6, 2007-2015, 2003.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção nacional de maracujá em 2016. Brasília: Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, 2016. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/1613#resultado>>. Acesso em: 01/12/2017.

KORNDORFER, C.M. et al. Armazenamento e Composição Química do Resíduo da Indústria de Suco de Maracujá. In: 35ª REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 1998, Botucatu-SP. Disponível em: <<http://sbz.org.br/new/pt/documentos--anais-das-reunioes>>. Acesso em: 23 nov. 2017.

KRIDER, J.L.; CONRAD, J.H.; CARROL, W.W. **Swine production**. 8. ed. New York: McGraw-Hill, 1982. 679 p.

LIMA, A.A; CUNHA, M.A.P. **Maracujá: produção e qualidade na passicultura**. Cruz das Almas-BA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2004. 396 p. Disponível em: <<https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=pc&id=653114&biblioteca=vazio&busca=assunto:Cultivo&qFacets=assunto:Cultivo&sort=&paginacao=t&paginaAtual=256>>. Acesso em: 23 nov. 2017.

LIMA, U. A. et al. **Biotecnologia Industrial, Processos Fermentativos e Enzimáticos**, 1. ed., v. 3. São Paulo-SP: Editora Edgard Blücher, 2001. 616 p.

LIMA, U. A. et al. **Biotecnologia Industrial**. 1. ed. São Paulo-SP: Edgard Blucher, 2002. 616 p. v. 3.

LIRA JÚNIOR, W. B. **Composição Bromatológica e Padrão Fermentativo de Silagem de Capim-Elefante cv Roxo Sob Níveis de Inclusão de Casca de Maracujá e Tempos de Emurhecimento**. 2011. 39 f. Dissertação (mestrado)-Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo-AL, 2011.

LONSANE, B.K., Ghildyal, N.P., Budiatman, S.; Ramakrishna, S.V. **Engineering aspects of solid state fermentation**. Enzyme and Microbial Technology, v. 7, n. 6, 258–265, 1985.

LÓPEZ-VARGAS, J.H et al. Chemical, physico-chemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of dietary fiber powder obtained from yellow passion fruit (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) co-products. **Food Research International**, [S.l.], v. 51, p. 756-763, maio. 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996913000823>>. Acesso em: 15 nov. 2017.

LOUSADA JÚNIOR., J.E., et al. **Consumo e Digestibilidade Aparente de Subprodutos do Processamento de Frutas em Ovinos**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.34, n.2, p.591-601, 2005.

LUCIANO, R. C.; SERRALHEIRO, C.; ARAÚJO, L. F.; REIS, A. M.; AGUIAR, E. M.; BORBA, L. H. F. **Enriquecimento Proteico de Resíduos do Abacaxi para Alimentação Alternativa de Ruminantes**. Tecnologia e Ciência Agropecuária, João Pessoa, v.8, n.4, p.47-52, 2014.

MARTIN, S.A.; NISBET, D.J. **Effect of Direct Fed Microbials on Rumen Microbial Fermentation**. Journal of Dairy Science, v.75, n.6, p.1736-1744, 1992.

MELETTI, L. M. M. **Avanços na Cultura do Maracujá no Brasil**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. especial, p. 83-91, out., 2011.

MELETTI, L.M.M. Maracujá 'Joia' (IAC-277), 'Maracujá-Maçã', 'Maracujá-Maravilha' (IAC-275), 'Maracujá-Monte-Alegre' (IAC-273). In: DONADIO, L.C. (Ed.). Novas variedades brasileiras de frutas. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2000. p. 152-159.

MERTENS, D.R. **Predicting Intake and Digestibility Using Mathematical Models of Ruminal Function**. Journal Animal Science, v. 64, p. 1548-1558, 1987

MILFORD, R.; MINSON, D.J. Intake of Tropical Pasture Species. In: CONGRESSO INTERNATIONAL DE PASTAGENS, set., 1965, São Paulo. Anais... São Paulo: Secretaria de Agricultura, Departamento da Produção Animal, 1965. v. 1. p. 815-822.

MIRANDA, J. C. **Bioconversão Energética da Folha e Bagaço de Mandioca pelo Fungo Rhizopus oligosporus para Obtenção de Alimento Funcional**. 2014. 77 f. Dissertação (mestrado)- Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro-SP, 2014.

MUCK, R. Conserved Forage (Silage and Hay) – Progress and Priorities. In: INTERNATIONAL GRASSLAND, 2001, São Pedro. 1 Cd-Rom.

NASCIMENTO, T.A.; CALADO, V.; CARVALHO, C.W.P. **Development and Characterization of Flexible Film Based on Starch and Passion Fruit Mesocarp Flour With Nanoparticles**. Food Research International, n.49, p.588–595, 2012.

NEIVA JÚNIOR, A. P. **Qualidade da silagem do resíduo do fruto de maracujá amarelo nas formas pura e em mistura com aditivos**. 2006. 67 f. Dissertação (mestrado)- Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG, 2006.

NEWBOLD, C.J.; WALLACE R.J.; McINTOSH, F.M. **Mode of Action of the Yest *Saccharomyces cerevisiae* as Feed Additive for Ruminants**. British Journal of Nutrition, v.76, p.249-261,1996.

OLIVEIRA JÚNIOR, J. C. et al. Enriquecimento Proteico da Palma Forrageira e da Algaroba por Fermentação Semissólida. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA E ENSINO EM CIÊNCIAS, 2016, Campina Grande-PB. Disponível em: <http://www.editorarealize.com.br/revistas/conapesc/trabalhos/TRABALHO_EV058_M D4_SA80_ID2019_17052016202313.pdf> Acesso em: 10/12/2017.

OLIVEIRA, E.M.S. **Caracterização de rendimento das sementes e do albedo do maracujá para aproveitamento industrial e obtenção da farinha da casca e pectina**. 122 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual do Norte Fluminense "Darcy Ribeiro", Rio de Janeiro-RJ, 2009.

OLIVEIRA, M. M. **Enriquecimento nutricional por bioconversão de resíduos agroindustriais para utilização na alimentação animal**. 2007. 121 f. Tese (doutorado)- Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande-PB, 2007.

PANDEY, A. Solid-State Fermentation. Trivandrum: Biochemical Engineering Journal, 2002. Disponível em: <http://www.academia.edu/12420078/Solid-state_fermentation>. Acesso em: 15 nov. 2017.

PARENTE, H.N. et al. **Desempenho produtivo de ovinos em confinamento alimentados com diferentes dietas**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.61, n.2, 2009.

PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E. C. S. **Microbiologia**. São Paulo: Mcgraw-Hill, 1981. 575-1072 p. v. 2.

PINTO, G. A. S. Fermentação em Estado Sólido: Uma Alternativa para o Aproveitamento e Valorização de Resíduos Agroindustriais Tropicais. Comunicado Técnico 102. [S.l.]: Embrapa Agroindústria Tropical, 2005. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/426390/1/Ct102.pdf>> . Acesso em: 15 nov. 2017.

PIRES, M. de M.; SÃO JOSE, A. R.; CONCEIÇÃO, A. O. **Maracujá: Avanços Tecnológicos e Sustentabilidade**. 1. ed. Ilhéus: Ilhéus, 2011. 237 p.

QUEIROZ, R. C. et al. **Uso de Produto à Base de Enzima e Levedura na Dieta de Bovinos: Digestibilidade dos Nutrientes e Desempenho em Confinamento**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.33, n.6, p. 1548-1556, 2004.

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. 99-147, 1993.

REIS, J. Composição química, consumo voluntário e digestibilidade das silagens de resíduo do fruto de maracujá (*Passiflora edulis*, Sims f. *flavicarpa*) com capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum), cv cameroon e suas combinações. Lavras: UFLA, 1994. 50p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de lavras, 1994.

ROGÉRIO, M. C. P. **Valor Nutritivo de Subprodutos de Frutas para Ovinos**. 2005. 318 f. Tese (doutorado)- Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 2005.

ROSE, A.H.; HARRISON, J.N. **The yeast**. London: Academic Press, v.3, p.590, 1970.

Santana Neto, D. C. et al. **Avaliação do processo de enriquecimento proteico de resíduo de abacaxi**. Revista Verde, v.12, n.1, p.95-99, 2017.

SANTIN, A. P. **Estudo da secagem e da inativação de Leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*)**. 1996. 105 f. Dissertação (mestrado)- Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 1996.

SANTOS, R. A. et al. **CARACTERIZAÇÃO BROMATOLÓGICA DE RESÍDUOS (CASCA E SEMENTES) DE MARACUJÁ (*Passiflora edulis*)**. Disponível em: < <https://goo.gl/H7dhun>>. Acesso em: 22/12/2017.

SANTOS, R. C.; RIBEIRO FILHO, N. M.; ALSINA, O. L. S.; CONRADO, L. S. Enriquecimento Proteico de Bagaço do Pseudofruto do Caju por via Fermentativa. In: 1º CONGRESSO QUÍMICO DO BRASIL, mês, 2010, João Pessoa – PB. Disponível em: < <http://aquimbrasil.org/congressos/2010/arquivos/T28.pdf>>. Acesso em: 22/12/2017.

SANTOS, S. F. M. **Estudo da produção de pectinases por fermentação em estado sólido utilizando pedúnculo de caju como substrato**. 2007. 148 f. Tese (doutorado)- Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN, 2007.

SENA, J. A. B. **Consumo, digestibilidade e desempenho de ovinos alimentados com casca de maracujá desidratada**. 2011. 57 f. Dissertação (mestrado)- Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina-MG, 2011.

SGARBIERI, V. C. et al. **Produção piloto de derivados de levedura (*Saccharomyces* sp.) para uso como ingrediente na formulação de alimentos**. Brazilian Journal of Food Technology, Campinas, v. 2, p. 199-125, Aug. 1999.

SILVA, G. T. M. A et al. **Caraterísticas físicas e químicas de frutos de diferentes genótipos de maracujazeiro**. Disponível em: <https://goo.gl/d78E5Y>. Acesso em: 10/02/2017.

SILVA, G.M.S. et al. **Enriquecimento proteico do resíduo de abacaxi mediante fermentação semissólida**. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável. v.11, n.5, p. 39-44, 2016.

VALADARES FILHO, S. C.; MARCONDES, I. M. Utilização de Indicadores na Avaliação do Consumo de Animais: estado de arte In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM AVANÇOS TÉCNICAS DE PESQUISA EM NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, II., 2009, Pirassununga, Anais... Pirassununga Universidade de São Paulo 2009 ,210p.

VALDUGA, M. et al. Levedura Cervejeira (*Saccharomyces cerevisiae*): Processos de Rompimento Celular e Composição Química. In: 27º SIC UDESC, mês, 2017. Disponível em:< http://www.udesc.br/arquivos/udesc/id_cpmenu/6218/63_15034019998325_6218.pdf>. Acesso em: 01/02/2018.

VIEIRA, C. V. et al. **Composição Químico-Bromatológica e Degradabilidade In Situ da Matéria Seca, Proteína Bruta e Fibra em Detergente Neutro da Casca do Fruto de Três Variedades de Maracujá (*Passiflora* spp)**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.28, n.5, p.1148-1158, 1999.

VINIEGRA-GONZALEZ, G. Solid state fermentation: definition, characteristics, limitation and monitoring. In: ROUSSOUS, S. et al. **Advances in Solid State Fermentation**. Iztapalapa: Springer Science+Business Media Dordrecht, 1997. Cap. 2, p. 5-22. v. 3. Disponível em: <https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-017-0661-2_2#citeas>. Acesso em: 23 nov. 2017.

WALLACE, R.J. **Ruminal microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems**. Journal of Animal Science, v.72, p.2992-3003, 1994.

YAMADA, E. A. et al. **Composição Centesimal e Valor Protéico de Levedura Residual da Fermentação Etanólica e Seus Derivados**. Revista de Nutrição. Campinas, v. 16, n. 4, p. 423-432, out/dez, 2003.

CAPÍTULO I

Cinética da Fermentação Semissólida em Função de Diferentes Concentrações de Leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) Adicionadas ao Resíduo Agroindustrial de Maracujá Pós-Ensilado

1. Resumo

Objetivou-se com o presente trabalho avaliar o crescimento de leveduras em sistema de fermentação semissólida (FSS) utilizando como substrato o resíduo agroindustrial do maracujá, após ser ensilado por 60 dias. O resíduo foi proveniente da fabricação de polpas de frutas, cedido pela empresa AGRICOM LTDA, situada no município de Anadia-AL. O resíduo, constituído por casca de maracujá com pequenas quantidades de sementes eliminadas pela máquina despulpadeira, foi ensilado logo após o processamento pela agroindústria. Utilizaram-se 24 tonéis de 200 litros revestidos internamente por um saco de polietileno de baixa densidade e compactados a densidade aproximada de 0,7 kg/dm³, deixando-se um pequeno dreno no fundo do silo. Após 60 dias os silos foram abertos, o conteúdo dos silos foram triturados e utilizados como substrato para fermentação semissólida. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com seis repetições. Os tratamentos foram constituídos por quatro concentrações de leveduras (0, 2, 4 e 6% de *Saccharomyces cerevisiae*) e quatro intervalos de FSS (0, 24, 48 e 72 horas). A cada 12 horas foi realizada a total homogeneização dos substratos nos biorreatores. Fizeram-se amostragens para cada intervalo de 24 horas das seguintes variáveis: crescimento de leveduras (UFC.g⁻¹), teor de sólidos solúveis e umidade do substrato. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo Teste F, a 5% de probabilidade, e análise de regressão. Constaram-se efeitos significativos no crescimento de leveduras em função das diferentes concentrações inoculadas e do tempo de FSS.

Palavras-chave: fermentação semissólida, resíduo de frutas, maracujá.

2. Abstract

The objective of this work was to evaluate yeast growth in a semi-solid fermentation system (FSS) using the agroindustrial residue of passion fruit, as a substrate, after being silage for 60 days. The residue came from the manufacture of fruit pulps, provided by AGRICOM LTDA, located in the municipality of Anadia-AL. The residue, constituted by passion fruit peel with small quantities of seeds eliminated by the pulp machine, was ensiled soon after processing by the agroindustry. Twenty-five 200-liter vats, internally coated by a low-density polyethylene bag and compacted at a density of approximately 0.7 kg / dm³, were used, leaving a small drain in the bottom of the silo. After 60 days the silos were opened, the contents of the silos were crushed and used as substrate for semi-solid fermentation. A completely randomized design (DIC) with six replications was used. The treatments consisted of four concentrations of yeasts (0, 2, 4 and 6% of *Saccharomyces cerevisiae*) and four FSS ranges (0, 24, 48 and 72 hours). Every 12 hours the total homogenization of the substrates in the bioreactors was carried out. Samples were collected for each 24 hour interval of the following variables: yeast development (UFC.g⁻¹), soluble solids content and substrate moisture. Data were submitted to analysis of variance by F-test, 5% probability, and regression analysis. Significant effects on yeast growth were observed as a function of the different inoculated concentrations and the FSS time.

Keywords: semi-solid fermentation, fruit residue, passion fruit.

3. Introdução

O Brasil é considerado o maior produtor mundial de maracujá, sendo as frutas destinadas basicamente para o mercado interno. A indústria de polpas e sucos consomem entre 50 e 60% do volume total produzido no país (TODA FRUTA, 2017).

Os descartes de resíduos chegam a 2/3 do volume destinado às indústrias, a casca do maracujá contém mais de 80% de umidade, é altamente perecível e por isso exige cuidados na sua conservação quando se pretende utilizar no fornecimento para animais. Uma das formas mais econômicas de se armazenar este subproduto é através da silagem. Lira Júnior (2011) e Reis et al. (2001) verificaram diversas vantagens no processo de ensilagem da casca de maracujá, dentre elas a fácil compactação, o que favorece o processo fermentativo anaeróbico, boa palatabilidade e digestibilidade da matéria seca (REIS et al., 2001).

Embora a silagem de casca de maracujá seja uma alternativa para alimentação de animais em épocas de escassez de forragem, apresenta baixos teores de proteína, sendo importante a suplementação com outros alimentos que possuam maiores quantidades de proteína ou passe por processos de enriquecimento proteico através da bioconversão por microrganismos.

A fermentação semissólida de resíduos agroindustriais por leveduras vem sendo estudada com a finalidade de promover redução de problemas ambientais e melhorias em características nutricionais de alimentos para utilização em rações para animais. Esse tipo de fermentação ocorre em meio sólido com baixa atividade de água, porém com capacidade para garantir o crescimento e metabolismo dos microrganismos (PANDEY et al., 2001; GERVAIS et al., 1996).

A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, por possuir aproximadamente 45% de proteína, ter capacidade de multiplicação em substratos de baixo custo e não apresentar relação patogênica, é considerada como um microrganismo “produtor de proteínas” (KILBERG, 1972). Segundo Oliveira (2007), é possível dobrar a quantidade de proteína bruta no resíduo de maracujá *in natura*, através da fermentação semissólida com *Saccharomyces cerevisiae*.

Desta forma, o estudo sobre cinética da fermentação semissólida em silagem de cascas de maracujá, consiste numa alternativa para realizar o melhoramento nutritivo do resíduo combinado a uma condição de armazenamento de baixo custo.

O estudo da cinética de crescimento das leveduras durante o processo fermentativo consiste em analisar a evolução desses microrganismos no substrato

em função do tempo de fermentação semissólida. As variáveis de crescimento, geralmente expressas em unidades formadoras de colônias, permitem que sejam traçadas curvas que possibilitam a identificação das fases de crescimento exponencial, fase estacionária e declínio (fase de morte das células). Durante a fermentação ocorrem diversas transformações, células crescem, reproduzem-se e morrem; substâncias diversas existentes no meio são consumidas pelos microrganismos e produtos de metabolismo são lançados no meio em que os microrganismos atuam (SANTOS, 2013).

Diante da inexistência de trabalhos relacionados ao enriquecimento proteico de silagem de resíduos agroindustriais através da fermentação semissólida, informações sobre a cinética de crescimento dos microrganismos podem fornecer dados que permitam estimar o tempo de máxima eficiência da bioconversão e melhor concentração de leveduras para inoculação.

Considerando o binômio “concentração do inóculo” e “tempo de fermentação”, montou-se o presente experimento utilizando como substrato o resíduo de maracujá ensilado por 60 dias, com diferentes concentrações de leveduras (0, 2, 4 e 6% de *Saccharomyces cerevisiae*) e intervalos de fermentação (0, 24, 48 e 72 horas). Os dados após tabulação, foram submetidos à análise de variância e análises de regressão.

4. Material e Métodos

O microrganismo utilizado para inocular os substratos foi a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, prensada, tipo fermento biológico fresco (FBF), produzido pela marca Fleischman, com umidade de 80% e 45% de proteína bruta (PB) na matéria seca (MS).

O resíduo agroindustrial de maracujá foi obtido a partir da produção de polpas de frutas, cedido pela empresa AGRICOM LTDA, na cidade de Anadia-AL. Posteriormente, esse material foi ensilado por 60 dias, em silos constituídos por tonéis de 200 litros, revestidos internamente com filme plástico de polietileno de baixa densidade, com espessura de 100 micras e um pequeno dreno para eliminação do excesso de umidade decorrente do processo de fermentação da silagem.

Foram utilizados 24 biorreatores com volume de 500 ml e abertura superior de 25 cm² para auxiliar na oxigenação das leveduras no processo de fermentação semissólida (FSS), sendo cada biorreator uma unidade experimental (parcela). O conteúdo de cada biorreator foi revolvido a cada 12 horas durante o período de fermentação.

Os tratamentos foram constituídos por um esquema fatorial formado por quatro concentrações de leveduras (0, 2, 4 e 6% b.u.) e quatro intervalos de crescimento microbiano (0, 24, 48 e 72 horas). As variáveis analisadas foram: crescimento de leveduras, sólidos solúveis totais (SST) e umidade.

O processo de fermentação semissólida foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Instituto Federal de Alagoas - Campus Satuba. Os substratos constituídos de silagem de casca de maracujá, triturada em máquina picadeira de forragem, foram acondicionados nos biorreatores e posteriormente homogeneizados com as leveduras nas concentrações correspondentes aos tratamentos.

Foram realizadas análises microbiológicas em intervalos de 24 horas, retirando-se uma amostra de cada biorreator e fazendo-se a inoculação em meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar) em quatro repetições através das diluições de 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸. A metodologia de inoculação e contagem de leveduras, foi praticada da seguinte maneira: pipetou-se assepticamente 0,1 mL de cada diluição, distribuindo-as em placas contendo BDA acidificado com ácido tartárico a 10%. Em

seguida incubaram-se as placas a 25 °C por cinco dias. As unidades formadoras de colônias foram calculadas de acordo com as diluições (APHA, 2001).

Para determinação do teor de sólidos solúveis totais, expressa em °Brix, foram adicionados 9 ml de água destilada a 1 gramas do material seco, e após homogeneização, a suspensão ficou em repouso por 60 minutos, com agitação intermitente. Após esse período a suspensão foi passada em papel filtro e realizada a leitura em refratômetro, o resultado foi multiplicado por dez, devido à diluição (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

Para determinação da umidade foi pesada uma quantidade da amostra em balança analítica e em seguida a mesma foi colocada para desidratar completamente em estufa regulada a 105°C até obter peso constante. Após completa desidratação, pesou-se novamente a matéria seca e por diferença foi calculado quanto a amostra tinha de umidade, expressando-se o resultado em termos de percentagem.

O delineamento experimental aplicado foi o delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e para as variáveis com efeito significativo entre os tratamentos, realizaram-se análises de regressões, gerando equações polinomiais para aqueles que apresentaram correlação entre os dados observados e calculados. O ponto máximo de cada coordenada cartesiana, “x” e “y”, foi obtido através da derivação da respectiva equação de regressão com modelo polinomial de segundo grau ($ax^2 + bx + c = 0$). Onde:

$$x(\text{máximo}) = - \frac{b}{2a}$$

$$y(\text{máximo}) = - \frac{[b^2 - (4ac)]}{4a}$$

Foi utilizado o programa estatístico Sisvar, versão 5.0 para tabulação dos dados, análises de variância e análises de regressão.

5. Resultados e Discussão

a. Crescimento de leveduras

As diferentes concentrações de leveduras adicionadas ao substrato_RM, o tempo de fermentação semissólida (FSS) e a interação entre esses dois fatores influenciaram o crescimento das leveduras durante o processo de bioconversão (tabela 6)

Tabela 6 . Quadrados médios da análise de variância referente à quantidade de leveduras ($\log_{10}$ UFC) presentes no processo de FSS do substrato_RM:

Fontes de variação	GL	SQM.	QM	F cal
Conc. de leveduras	3	10,749117	3,583039	25,67***
Tempo	3	54,535117	18,178372	130,27***
Conc. de leveduras x Tempo	9	21,270017	2,363335	16,93***
Resíduo	80	11,163733	0,139547	
CV (%)	5,92			

ns = não significativo a 5% de probabilidade; *, **, ***= significativo a 5%, 1% e 0,1% de probabilidade, pelo Teste F

O efeito da interação foi caracterizado pelo aumento de unidades formadoras de colônias (UFC) combinado com a elevação da concentração de inoculante e a redução do tempo de FSS (Figura 1). Assim, o crescimento de leveduras no substrato_RM sem inoculação ocorreu lentamente e apresentou um efeito linear ao longo de 72 horas de fermentação, obtendo-se a quantidade de unidades formadoras de colônia por grama (UFC.g^{-1}) em número logarítimo através da equação $y = 0,0334x + 5,0213$ ($R^2 = 95,98\%$).

Todas as concentrações de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), utilizadas nas inoculações, resultaram em efeito quadrático no crescimento da biomassa de leveduras.

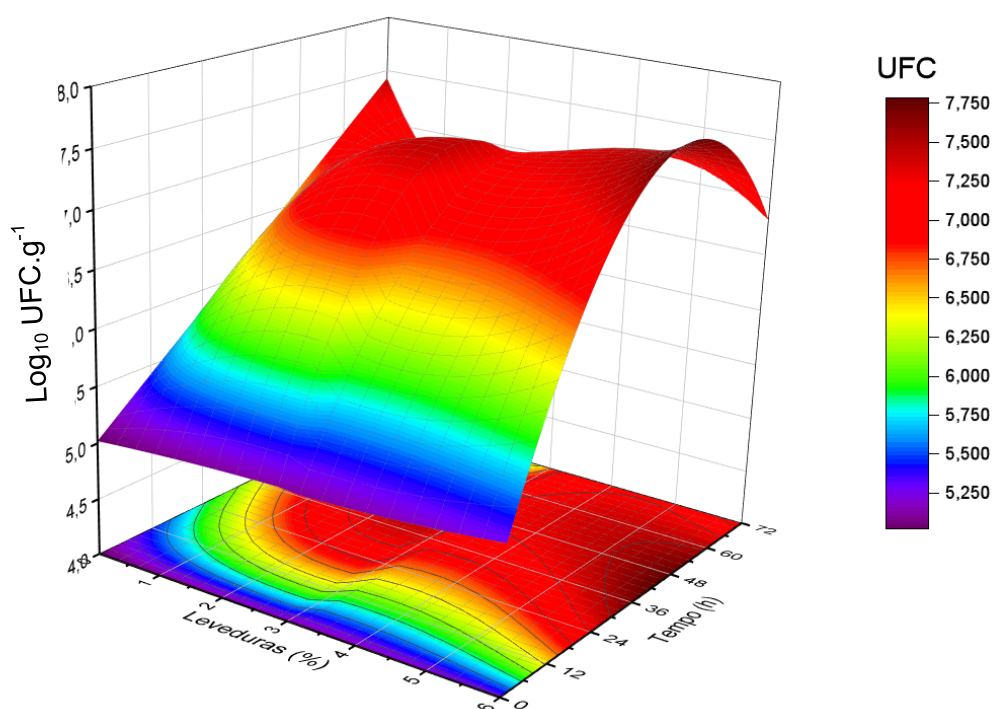


Figura 1 – Gráfico de crescimento da biomassa de leveduras em função do tempo de FSS, sob diferentes concentrações de *Saccharomyces cerevisiae*.

Sob 2% de inoculação, o pico de crescimento ocorreu após 56,4 horas de fermentação, onde a quantidade máxima de leveduras foi de $10^{6,65}$ UFC.g⁻¹. O crescimento da biomassa de leveduras foi obtido em número logaritmo através da equação $y = -0,0013x^2 + 0,1070x + 5,1057$ ($R^2 = 92,71\%$).

Na inoculação com 4%, a fermentação semissólida atingiu o pico de crescimento após 56,1 horas, onde a quantidade máxima de leveduras foi de $10^{7,34}$ UFC.g⁻¹. O crescimento da biomassa de leveduras, em número logaritmo, foi obtido através da equação $y = -0,0007x^2 + 0,0785x + 5,135$ ($R^2 = 87,63$).

O tempo necessário para atingir o crescimento máximo de leveduras com inoculação de 6% foi de 43,7 horas, onde foi constatado $10^{7,73}$ UFC.g⁻¹, sendo este considerado o melhor resultado entre os tratamentos avaliados no presente trabalho. O crescimento da biomassa de leveduras, em número logaritmo, foi obtido através da equação $y = -0,0013x^2 + 0,1135x + 5,253$ ($R^2 = 73,23$).

Em estudos realizados por outros pesquisadores, utilizando resíduos agroindustriais, foram observados efeitos semelhantes, indicando que o processo de FSS é potencializado com o aumento da concentração de leveduras inicialmente

inoculadas ao substrato (CAMPOS et al., 2005; OLIVEIRA JÚNIOR. et al., 2016; OLIVEIRA, 2007).

Santana et al. (2017), avaliaram o processo de FSS de resíduo agroindustrial de abacaxi por *Saccharomyces cerevisiae* e concluíram que os melhores resultados da bioconversão foram obtidos em 48 horas de fermentação, tempo superior ao que foi identificado no presente trabalho com inoculação de 6% de leveduras. Outros pesquisadores também têm relatado esse mesmo efeito ao estudarem o enriquecimento proteico de resíduos agroindustriais, apontando que às 48 horas de fermentação foram obtidos os valores máximos de biomassa de leveduras pela bioconversão (SILVA et. al, 2016; LUCIANO et al., 2014; ALEXANDRE et al., 2013; OLIVEIRA, 2007). No entanto, nesses trabalhos não foram realizadas as equações derivadas para estimar o tempo que proporciona o pico do processo de FSS, limitando-se aos valores coletados nas amostragens.

A aceleração do processo de FSS em função de maiores quantidades de leveduras inoculadas ao substrato_RM, deve-se ao favorecimento da fase inicial de fermentação, na qual o crescimento exponencial das leveduras acontece em menor intervalo de tempo, já que o aumento das concentrações de leveduras terá influência direta na biomassa microbiana e, por consequência, no consumo dos carboidratos disponíveis, fazendo com que a bioconversão seja concluída precocemente.

b. Consumo de sólidos solúveis totais (SST)

A análise de variância referente à quantidade de sólidos solúveis presentes na matéria seca do substrato_RM, ao longo do período de 72 horas de FSS, foi influenciada pelo tempo de fermentação semissólida e pela concentração de leveduras, havendo interação entre estes dois fatores (tabela 7).

O substrato inicial (silagem de resíduo agroindustrial de maracujá) apresentou a quantidade média de sólidos solúveis totais em 36,7 °Brix na matéria seca (MS), antes do processo de FSS. Considerando que a quantidade de sólidos solúveis totais, identificada no resíduo de maracujá *in natura* (predominante casca de maracujá) foi de 46 °Brix na MS, 9 °Brix foram diminuídos por efeito do processo de ensilagem, no qual o substrato foi submetido antes de passar pela inoculação de leveduras oriundas do fermento biológico fresco. Mesmo com essa perda no conteúdo de sólidos solúveis totais, antes da inoculação para a realização da FSS,

ainda foi possível uma nova redução no conteúdo desta variável para todas as concentrações de leveduras estudadas.

Tabela 7 – Quadrados médios da análise de variância, referente à quantidade de sólidos solúveis presentes na matéria seca do substrato_RM em função da FSS:

Fontes de variação	GL	SQM	QM	F cal
Conc. de leveduras	3	41,791667	13,930556	5,499***
Tempo	3	292,125000	97,375000	38,437***
Conc. de leveduras x Tempo	9	106,375000	11,819444	4,666***
Resíduo	80	202,666667	2,533333	
CV (%)	4,64			
Média geral	34,27			

***= significativo a 0,1% de probabilidade, pelo Teste F

O substrato sem inoculação obteve maior decréscimo ao final do período de fermentação de 72 horas, 21,8%, ajustando-se a equação linear $y = -0,104167x^2 + 37$, $R^2 = 92,29\%$. Porém, esse efeito não esteve relacionado à ação das leveduras, é possível que na ausência do inoculante, outros microrganismos, como fungos filamentosos e bactérias, passaram a se multiplicar de forma mais expressiva neste meio, consumindo os carboidratos disponíveis e implicando numa maior redução de SST em detrimento aos demais tratamentos (figura 2).

Sob a concentração de 2% leveduras, houve redução de 8% no conteúdo de SST em 72 horas de FSS, em relação ao substrato inicial, ajustando-se a equação quadrática que representa o efeito na redução de SST, onde $y = 0,001736x^2 - 0,177778x + 37,07$, $R^2 = 78,98\%$.

A inoculação com 4% de leveduras resultou em 12% de diminuição de SST no substrato_RM ao longo de 72 horas, ajustando-se a equação linear $y = -0,05556x + 37$, $R^2 = 85,11\%$.

A concentração de 6% de leveduras promoveu 10% de perdas no SST ao final de 72 horas, ajustando-se a equação linear representada por $y = -0,047222x + 36,367$, $R^2 = 93,23\%$.

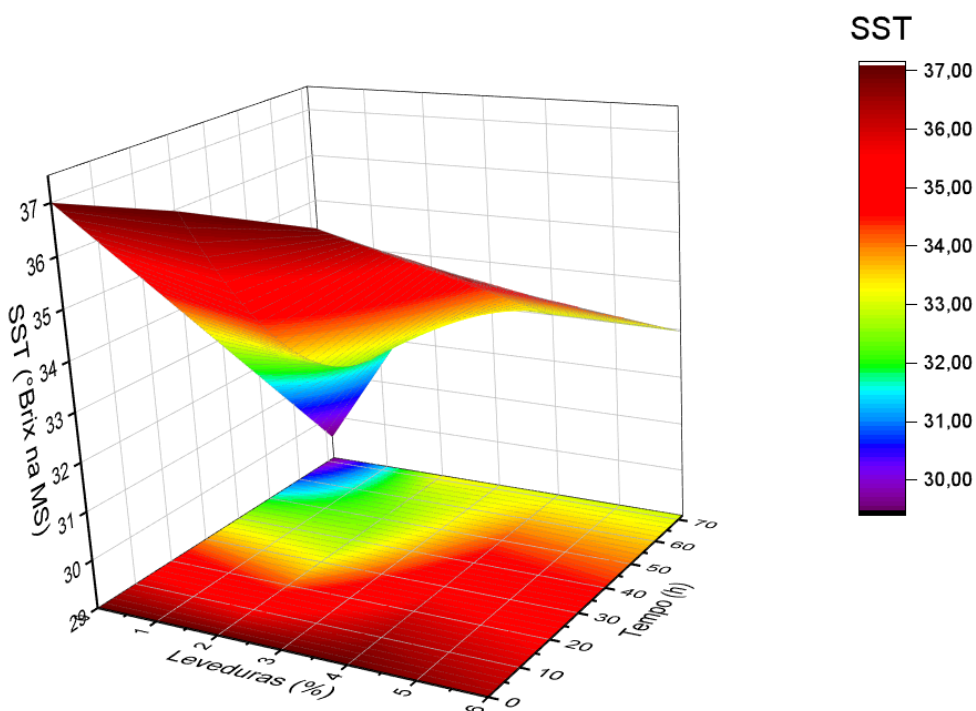


Figura 2 – Gráfico de sólidos solúveis totais (SST) em função do tempo de FSS do substrato_RM e da concentração e leveduras

Apesar dos efeitos sobre as diminuições nos teores de sólidos solúveis terem sido observados em outros trabalhos envolvendo fermentação semissólida de resíduos agroindústrias (SILVA et al. 2016; SANTANA NETO, 2017), entende-se que este parâmetro não propicia conclusões concisas na dinâmica do processo de bioconversão, pois na ausência de leveduras outros microrganismos atuam no consumo de SST. Mesmo nos tratamentos com maiores concentrações de leveduras inoculadas, ao atingirem o máximo da FSS, houve a tendência de morte das leveduras após a fase estacionária, assim os microrganismos deterioraram o substrato e continuaram reduzindo os valores de SST.

Umidade

A umidade foi influenciada pelas diferentes concentrações de leveduras inoculadas e pelo tempo de fermentação semissólida, sendo observada interação entre estes fatores.

Tabela 8 – Quadrados médios da análise de variância para a variável “umidade” na silagem de casca de maracujá submetida à FSS:

Fontes de variação	GL	SQM	QM	F cal
Conc. de leveduras	3	13,616033	4,538678	20,076***
Tempo	3	41,665733	13,888578	61,432***
Conc. de leveduras x Tempo	9	5,168167	0,574241	2,540**
Resíduo	80	18,086400	0,226080	
CV (%)	0,55			
Média geral	87,06			

***; ** = significativo a 0,1% de probabilidade e 1% de probabilidade, pelo Teste F, respectivamente.

A inoculação de leveduras proporcionou pequenas reduções no teor de umidade, variando apenas 1% entre o tratamento controle (sem inóculo) e com 6% de leveduras no início do processo de FSS. Com o aumento do tempo, observou-se que a fermentação associada às maiores concentrações de leveduras contribuiu para uma maior redução no teor de umidade (figura 3).

Os teores de umidade ao final de 72 horas de FSS foram 86,31 , 86,17 , 85,64 85,57, para as concentrações de , 0%, 2%, 4% e 6% de leveduras no substrato, respectivamente. As equações que se ajustam aos dados observados estão descritas abaixo:

$$\text{Umidade}_{0\% \text{ de leveduras}} = -0,000969x^2 + 0,048458x + 87,773 \quad (R^2 = 96,00\%)$$

$$\text{Umidade}_{2\% \text{ de leveduras}} = -0,000648x^2 + 0,030056x + 87,46 \quad (R^2 = 89,23\%)$$

$$\text{Umidade}_{4\% \text{ de leveduras}} = -0,000641x^2 + 0,025187x + 87,27 \quad (R^2 = 85,18\%)$$

$$\text{Umidade}_{6\% \text{ de leveduras}} = -0,000242x^2 - 0,003868x + 87,182 \quad (R^2 = 91,93\%)$$

Essa redução no teor de umidade, possivelmente, ocorreu devido à perda da água livre por evaporação, resultante da excreção dos microrganismos que colonizaram o substrato e excretaram água e CO₂ como produtos da quebra de moléculas de compostos de carbono.

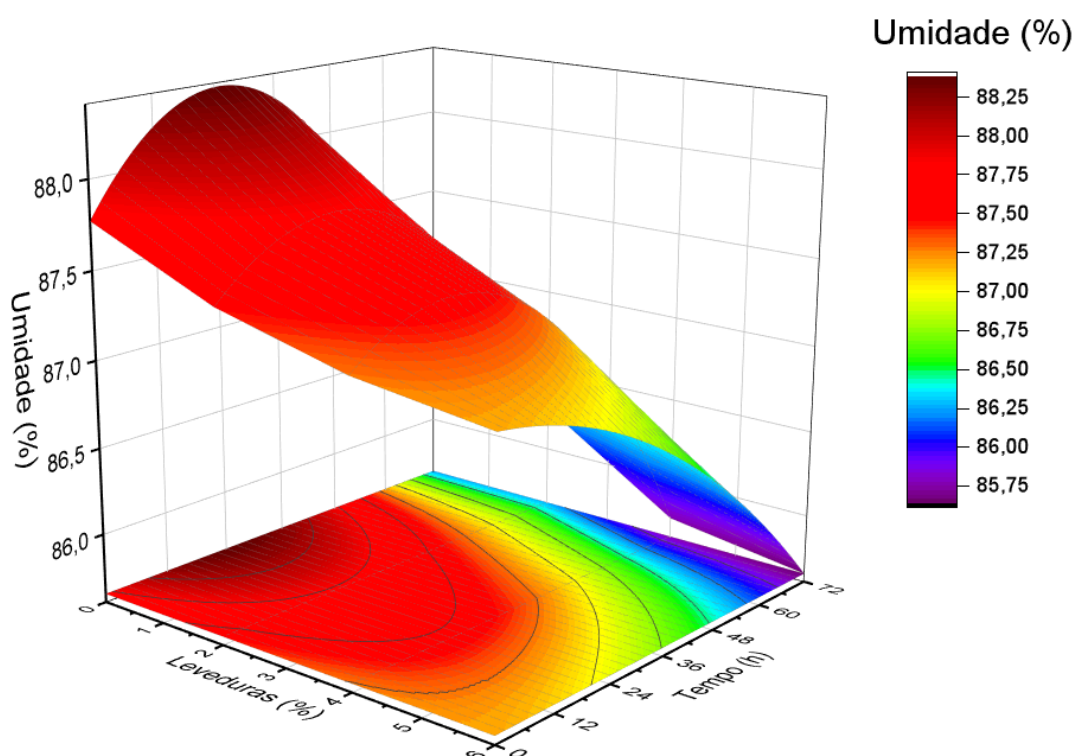


Figura 3 – Gráfico de umidade em função da concentração de leveduras inoculadas ao substrato _RM sob FSS.

Segundo Araujo et al. (2017), ao avaliarem o efeito da bioconversão da casca de mandioca por leveduras, afirmaram que houve significativa redução do teor de umidade, devido a perda de água em função da atividade metabólica dos microrganismos para promover a formação da biomassa.

O intervalo que proporcionou maior desidratação foi na fase de declínio da FSS, entre 48 e 72 horas. Nesta fase do processo de fermentação houve proliferação excessiva de fungos filamentosos e escurecimento do substrato, indicando decomposição e possível comprometimento da qualidade microbiológica e nutritiva. Essa constatação corrobora com o trabalho de Luciano et al. (2014), que estudaram o enriquecimento proteico de resíduo de abacaxi para alimentação alternativa de ruminantes, pois o prolongamento do período de fermentação, a partir de 48 horas, repercutiu em efeitos negativos nas características organolépticas (cor, odor e textura) do substrato e observaram sinais putrefação.

6. Conclusão

A utilização de *Saccharomyces cerevisiae* como inoculante no resíduo agroindustrial de maracujá pós-ensilado contribui para acelerar o processo de fermentação semissólida.

O teor de sólidos solúveis totais e de umidade são reduzidos ao longo de 72 horas de fermentação semissólida.

Referências

- ALEXANDRE, H. V. et al. Cinética de secagem do resíduo de abacaxi enriquecido. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.17, n.6, p. 640–646, 2013.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. APHA Committee on Microbiological Methods for Foods. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington, 2001. 676p.
- ARAÚJO, L. F. et al. Enriquecimento Nutricional da Casca da Mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) por processo biotecnológico destinado à alimentação animal. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, Botucatu-SP, v. 13, n. 1, p. 18-30, 2017.
- CAMPOS, A. R. N. et al. Enriquecimento protéico do bagaço do pendúnculo de caju por cultivo semi-sólido. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, São Cristovão-SE, v. 5 , n. 2. 2005.
- INSTITUTO ADOLFO, LUTZ. **Normas analíticas: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. São Paulo-SP: Imprensa Oficial do Estado, 1985. 180 p.
- LUCIANO, R. C. et al. Enriquecimento proteico de resíduos do abacaxi para alimentação alternativa de ruminantes. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa-PB, v.8, n.4, p.47-52, 2014.
- OLIVEIRA JÚNIOR, J. C. et al. Enriquecimento Proteico da Palma Forrageira e da Algaroba por Fermentação Semissólida. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA E ENSINO EM CIÊNCIAS, 2016, Campina Grande-PB. Disponível em: < http://www.editorarealize.com.br/revistas/conapesc/trabalhos/TRABALHO_EV058_MD4_SA80_ID2019_17052016202313.pdf> Acesso em: 10/12/2017.
- OLIVEIRA, M. M. **Enriquecimento nutricional por bioconversão de resíduos agroindustriais para utilização na alimentação animal**. 2007. 121 f. Tese (doutorado)- Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande-PB, 2007.
- ORDÓÑEZ, Pereda, J. A. O., Rodríguez, M. I. C., Álvarez, L. F., Sanz, M. L. G., Minguillón, G. D. G. de F., Perales, L. de L. H., & Cortecero, M. D. S. (2005). *Tecnología de alimentos: componentes dos alimentos e processos* (1.ed.). Porto Alegre: Artmed..
- Santana Neto, D. C. et al. Avaliação do processo de enriquecimento proteico de resíduo de abacaxi. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal-PB, v.12, n.1, p.95-99, 2017.
- SANTOS, R. A. **Estudo cinético do processo de fermentação etanólica do hidrolisado de farinha de mandioca utilizando complementação nutricional do mosto**. 2013. 102 f. Dissertação (mestrado)- Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió-AL, 2013.

SILVA, G.M.S. et al. Enriquecimento proteico do resíduo de abacaxi mediante fermentação semissólida. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal-PB, v.11, n 5, p. 39-44, 2016.

SOUZA, R. B. **Análise do desempenho fermentativo da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em resposta a composição mineral do meio**. 2012. 66 f. Dissertação (mestrado)- Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, 2012.

CAPÍTULO II

ENRIQUECIMENTO PROTEICO DA SILAGEM DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE MARACUJÁ COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE LEVEDURAS (*Saccharomyces cerevisiae*) EM SISTEMA FERMENTAÇÃO SEMISSÓLIDA

1. Resumo

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o enriquecimento proteico do resíduo agroindustrial de maracujá através da fermentação semissólida, com diferentes concentrações de leveduras para utilização em dietas voltadas a animais ruminantes. Foi utilizado o resíduo constituído por casca e poucas sementes, obtido a partir do processamento de polpas da empresa AGRICOM LTDA, situada no município de Anadia-AL. Logo após sair da máquina despulpadeira, onde as cascas foram fatiadas em 3 ou 4 pedaços, o resíduo foi diretamente armazenado na forma de silagem. Os silos constituídos por 24 tonéis de 200 litros, revestidos internamente por saco de polietileno com espessura de 100 micras, compactados até atingir a densidade média de $0,7 \text{ kg/dm}^3$, permaneceram fechados por um período de 60 dias. Posteriormente foram abertos, descartaram-se as camadas superficiais, próximas aos drenos e foi retirada uma porção de cada tonel para ser triturada e utilizada como substrato para a fermentação semissólida. O processo de fermentação semissólida foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Instituto Federal de Alagoas – Campus Satuba, em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com seis repetições. Os tratamentos foram constituídos por quatro concentrações de leveduras (0, 2, 4 e 6% b.u.) e quatro intervalos de FSS (0, 24, 48 e 72 horas). Foram analisadas as variáveis bromatológicas de proteína bruta (PB), aumento proteico relativo (APR), matéria seca (MS), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), extrato etéreo (EE) e material mineral (MM). Os dados foram submetidos à análise de variância pelo Teste F e, havendo significância a 5% de probabilidade, fizeram-se posteriormente análises de regressão. Os resultados evidenciaram correlação positiva entre as concentrações de leveduras e o tempo de FSS, sobre o incremento de PB no resíduo de maracujá pós-ensilado, sem afetar grandemente as demais variáveis nutricionais avaliadas.

Palavras-chave: fermentação semissólida, enriquecimento proteico, resíduo agroindustrial, maracujá

2. Abstract

The objective of the present work was to evaluate the protein enrichment of passion fruit agroindustrial residue through semi - solid fermentation, with different yeast concentrations for use in diets for ruminant animals. The residue constituted by bark and few seeds, obtained from the pulp processing of AGRICOM LTDA, located in the city of Anadia-AL. Soon after leaving the pulp machine, where the husks were sliced into 3 or 4 pieces, the residue was directly stored in silage form. The silos consisting of 24 200-liter barrels, internally coated by a polyethylene bag, compacted until reaching the average density of 0.7 kg / dm³, remained closed for a period of 60 days. Subsequently, the surface layers were discarded near the drains and a portion of each barrel was removed to be ground and used as a substrate for semi-solid fermentation. The semisolid fermentation process was carried out in the Microbiology Laboratory of the Federal Institute of Alagoas - Campus Satuba, in a completely randomized design, with six replicates. Treatments consisted of four concentrations of yeast (0, 2, 4 and 6%) and four FSS ranges (0, 24, 48 and 72 hours). Were analysed amount Crude protein, relative protein, dry matter, neutral detergent fiber, acid detergent fiber, ethereal extract and mineral. The data were submitted to analysis of variance by the F-test and, with significance at 5% probability, regression analyzes were performed. The results showed a positive correlation between yeast concentrations and FSS time, on the increment of CP in post-ensilage passion fruit residue, without affecting greatly the other nutritional variables evaluated.

Keywords: semisolid fermentation, protein enrichment, agroindustrial residue, passion fruit

3. Introdução

O cultivo de maracujá é comum no Nordeste brasileiro, principal região produtora desta fruta no mundo e se encontra em franca expansão, tanto para o consumo *in natura* como para industrialização. A casca do maracujá, dentre várias destinações alimentares e medicinais, pode também ser fornecida com sucesso para alimentação de animais ruminantes, contribuindo para um melhor aproveitamento econômico e sustentável.

Considerando que os períodos de safra coincidem com épocas de maior estiagem no Nordeste, o fornecimento do resíduo agroindustrial de maracujá pode diminuir o impacto da baixa disponibilidade de forragem quando fornecida para os animais. Por ser muito perecível, cuidados no armazenamento se fazem necessários para evitar problemas decorrentes de microrganismos patogênicos.

A silagem é uma técnica de armazenamento pouco onerosa para a conservação de volumosos e pode ser empregada com êxito para preservação das características nutritivas da casca de maracujá, pois apresenta de fácil compactação, boa palatabilidade e digestibilidade (BONFÁ et al., 2015; LIRA JÚNIOR, 2011).

Por ser rica em pectina, um carboidrato solúvel de alta digestibilidade, a casca do maracujá pode ser utilizada para suplementação energética a ruminantes, podendo substituir parcialmente alguns ingredientes em rações contendo concentrados energéticos (AMORIM, 2015). Porém, em relação à quantidade de proteína, atende em quantidades mínimas às necessidades nutricionais para engorda, portanto, precisa ser fornecida com outros alimentos proteicos ou passar por processos biotecnológicos para elevação dos níveis de proteína bruta.

A disponibilidade de carboidratos pode ser uma via alternativa para obtenção do aumento proteico através da bioconversão de açúcares em biomassa de microrganismos, constituídos majoritariamente por proteínas em suas células, em sistemas de fermentação semissólida. Oliveira (2007) estudou o enriquecimento da casca de maracujá *in natura* por fermentação semissólida utilizando *Saccharomyces cerevisiae* e conseguiu elevar o valor inicial de 7,88% para 18,72% de proteína bruta, demonstrando um potencial no uso da biotecnologia em prol do melhor aproveitamento nutricional do resíduo agroindustrial de maracujá.

Outros resíduos agroindustriais também vem sendo estudados quanto ao enriquecimento proteico por bioconversão, tais como bagaço de abacaxi (SILVA et al., 2016; ALEXANDRE et al., 2013) e caju (ALCÂNTARA et al., 2007; CAMPOS et al., 2005), sendo observados bons resultados de enriquecimento proteico.

Assim, com o objetivo de avaliar a combinação da técnica de silagem com posterior fermentação semissólida do resíduo agroindustrial de maracujá, montou-se o presente experimento. As cascas de maracujá foram obtidas a partir da fabricação de polpas de frutas e foram ensiladas em tonéis revestidos internamente por filme plástico, logo após a realização do despulpamento.

Após 60 dias de armazenamento, avaliaram-se os efeitos do enriquecimento proteico por inoculação de leveduras nas concentrações de 0, 2, 4 e 6% durante 72 horas de fermentação semissólida. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo Teste de Fisher, a 5% de probabilidade, fazendo-se posteriormente análises de regressões, quando observadas significâncias.

4. Material e Métodos

O microrganismo utilizado para inocular os substratos foi a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, prensada, tipo fermento biológico fresco (FBF), produzido pela marca Fleischman, com umidade de 80% e 45% de proteína bruta (PB) na matéria seca (MS).

O resíduo agroindustrial de maracujá foi obtido a partir da produção de polpas de frutas, cedido pela empresa AGRICOM LTDA, na cidade de Anadia-AL. Posteriormente, esse material foi ensilado por 60 dias, em silos constituídos por tonéis de 200 litros, revestidos internamente com filme plástico de polietileno de baixa densidade, com espessura de 100 micras e um pequeno dreno para eliminação do excesso de umidade decorrente do processo de fermentação da silagem.

Foram utilizados 24 biorreatores com volume de 500 ml e abertura superior de 25 cm² para auxiliar na oxigenação das leveduras no processo de fermentação semissólida (FSS), sendo cada biorreator uma unidade experimental (parcela). O conteúdo de cada biorreator foi revolvido a cada 12 horas durante o período de fermentação.

Os tratamentos foram constituídos por um esquema fatorial formado por quatro concentrações de leveduras (0, 2, 4 e 6% b.u.) e quatro intervalos de crescimento microbiano (0, 24, 48 e 72 horas). As variáveis analisadas foram: crescimento de leveduras, sólidos solúveis totais (SST) e umidade.

O processo de fermentação semissólida foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Instituto Federal de Alagoas - Campus Satuba. Os substratos constituídos de silagem de casca de maracujá, triturada em máquina picadeira de forragem, foram acondicionados nos biorreatores e posteriormente homogeneizados com as leveduras nas concentrações correspondentes aos tratamentos.

As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas. Foram feitas amostragens a cada 24 horas de FSS, sendo realizada a pesagens e o acondicionamento em congelador (- 20 °C). Posteriormente as amostras foram secadas em estufa a 55 °C, com circulação de ar forçada. As amostras foram trituradas em moinho tipo Willey e em seguida foram realizadas as determinações de proteína bruta (PB), matéria seca (MS), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em

detergente ácido (FDA), extrato etéreo (EE) e material mineral (MM), seguindo a metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002). A partir dos resultados de PB também foi feita a determinação do aumento proteico relativo (APR) para cada tratamento.

As determinações do APR foram definidas como a razão entre a diferença do valor proteico do substrato enriquecido e o valor proteico do substrato após inoculação com as leveduras, no momento inicial da FSS (tempo=0 horas), conforme equação descrita abaixo.

$$APR(\%) = \frac{(\%PB \text{ enr.} - \%PB \text{ inicial})}{\%PB \text{ inicial}} \times 100$$

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e para as variáveis com efeito significativo entre os tratamentos, realizaram-se análises de regressões, gerando equações polinomiais para aqueles que apresentaram correlação entre os dados observados e calculados. O ponto máximo de cada coordenada cartesiana, “x” e “y”, foi obtido através da derivação da respectiva equação de regressão com modelo polinomial de segundo grau ($ax^2 + bx + c = 0$). Onde:

$$x(máximo) = - \frac{b}{2a}$$

$$y(máximo) = - \frac{[b^2 - (4ac)]}{4a}$$

Foi utilizado o programa estatístico Sisvar, versão 5.0 para tabulação dos dados, análises de variância e análises de regressão. Os gráficos tridimensionais foram plotados através do software OriginPro 8.

5. Resultados e Discussão

a. Proteína bruta

As diferentes concentrações de leveduras inoculadas ao substrato de resíduo de maracujá pós-ensilado (substrato_RM), o tempo de fermentação e a interação entre concentração de leveduras e o tempo de fermentação, influenciaram a quantidade de proteína bruta (PB) obtida através do processo de fermentação semissólida (tabela 9).

Tabela 9 – Quadrados médios da análise de variância referente à quantidade de PB presente no substrato_RM sob FSS por *Saccharomyces cerevisiae*:

Fontes de variação	GL	SQM	QM	F cal
Conc. de leveduras	3	309,139483	103, 046494	407,916 ***
Tempo	3	11,161683	3,720561	14,728 ***
Conc. de leveduras x Tempo	9	21,595350	2,399483	9,499***
Resíduo	80	20,209333	0,252617	
CV (%)	5,22			

***; ** = significativo a 0,1% de probabilidade e 1% de probabilidade, pelo Teste F, respectivamente.

O tratamento controle, sem inoculação de leveduras, não apresentou aumento no teor de PB ao longo do período observado de FSS. A ausência de correlação através análise de regressão ($p > 0,05$) indica que o valor de PB na matéria seca se manteve na média de 7,3%.

Já os substratos inoculados com *Saccharomyces cerevisiae* apresentaram correlação positiva com as diferentes concentrações estudadas e efeito quadrático durante a FSS ($p < 0,05$), elevando-se os valores de PB sempre associados às maiores concentrações de leveduras inoculadas.

O substrato inoculado com 2% de leveduras atingiu o ápice da bioconversão às 53,3 horas de FSS, chegando ao valor máximo de 8,7% de PB na MS, conforme a $y = -0,0002x^2 + 0,0213x + 8,1215$ ($R^2 = 69,27\%$).

O enriquecimento proteico por ocasião da inoculação com 4% de *Saccharomyces cerevisiae* foi maximizado em 51,1 horas de FSS, com 11,1% de PB na MS. A equação de regressão quadrática $y = -0,0006x^2 + 0,0613x + 9,5715$ ($R^2 = 98,5\%$) demonstra a curva de incremento proteico nestas condições.

A concentração de 6% de leveduras proporcionou o maior teor de proteína no substrato_RM em 41,3 horas, com 12,8% de PB na MS. O efeito pode ser representado pela equação quadrática $y = -0,0011x^2 + 0,0908x + 10,96$ ($R^2 = 92,38\%$).

Através da figura 4 é possível identificar a interação entre os fatores “concentração de leveduras inoculadas” e “tempo” de FSS no enriquecimento proteico do substrato-RM. A superfície de resposta evidencia que o máximo incremento em PB foi obtido com a concentração mais elevada de leveduras (6%), destacando-se o intervalo compreendido entre 30 e 48 horas como o ideal para utilização da FSS nestas condições.

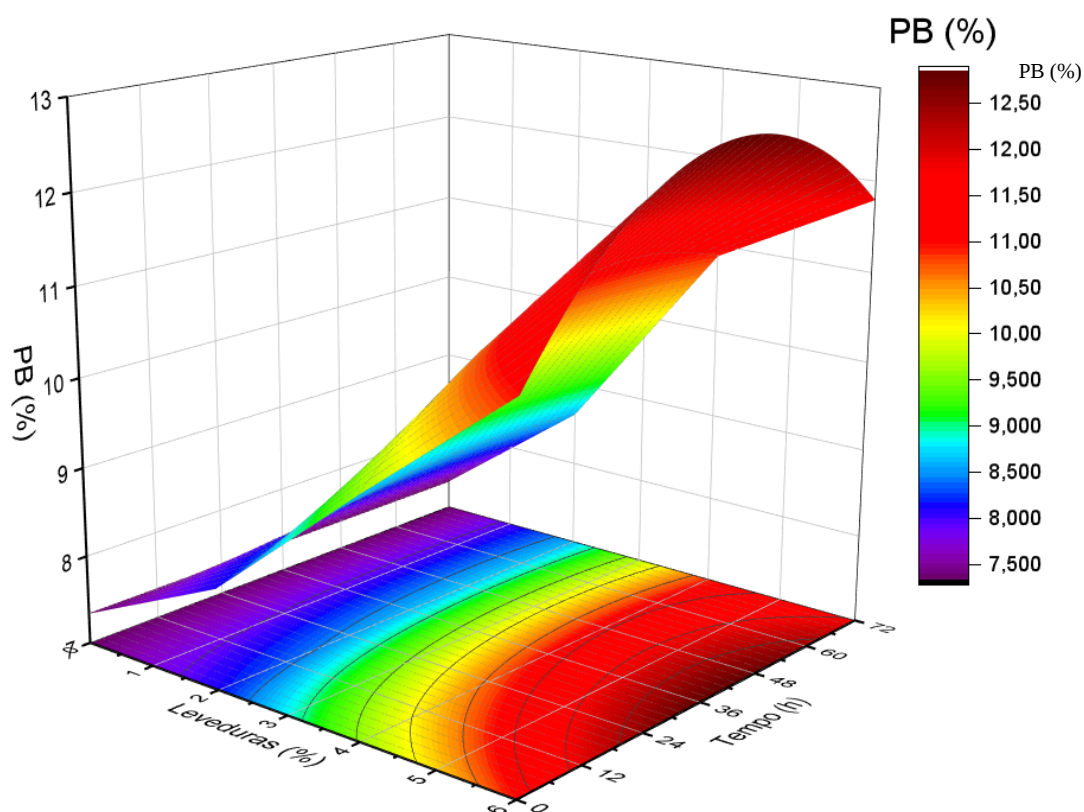


Figura 4 – Gráfico de superfície de resposta, relacionando o teor de PB com a concentração de leveduras e o tempo de FSS no substrato_RM.

Porém, parte desse aumento foi atribuído diretamente à adição de leveduras, já que possuem aproximadamente 45% de PB nas células. O incremento posterior ocorreu em função do processo de bioconversão em FSS, sendo este entendido como um aumento proteico relativo (APR).

O APR é aqui representado em valores percentuais, obtidos pela quantidade de proteína bruta formada exclusivamente pela fermentação semissólida do substrato_RM por *Saccharomyces cerevisiae*, sendo a razão entre a diferença de PB obtida pela FSS e a quantidade inicial de proteína do substrato-RM já inoculado.

Foi observado que o maior APR também ocorreu utilizando as maiores concentrações de inoculante, sendo constatados os valores de 9% ,16,2% e 17,4%, sob inoculações a 2% 4% e 6% de leveduras, respectivamente (Figuras 5). Não houve APR para o tratamento controle, ou seja, sem inoculação de leveduras ($APR_{\text{sem-lev.}} = 0$).

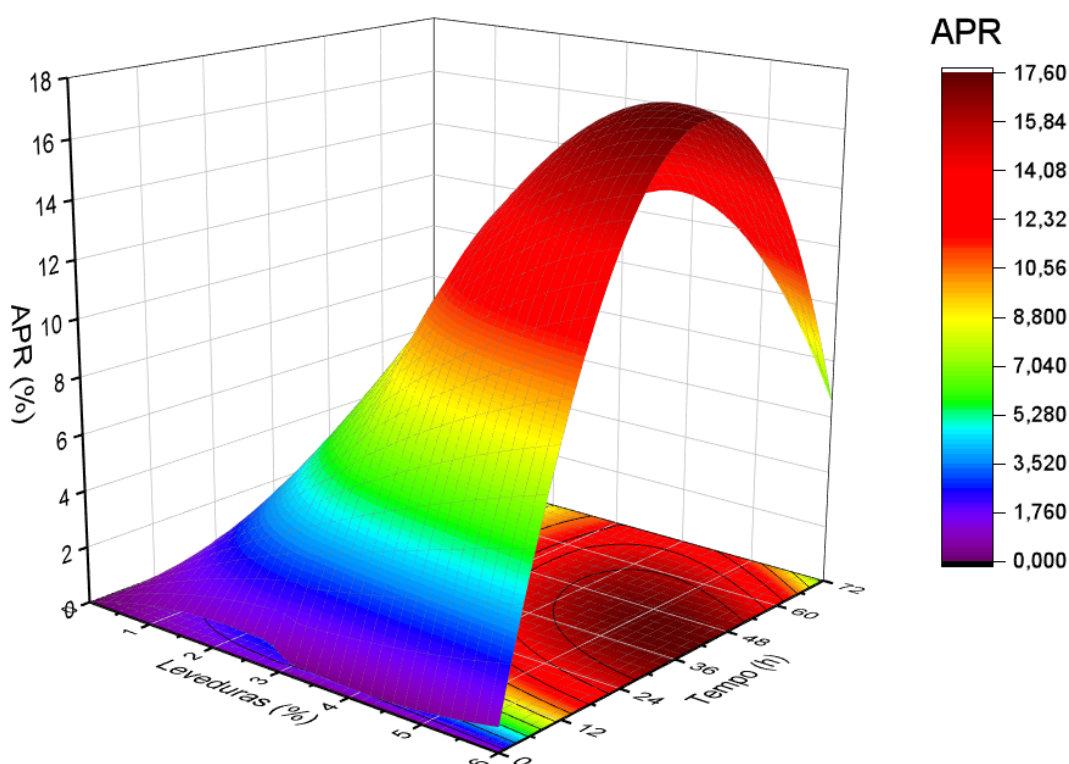


Figura 5 – Gráfico de superfície de resposta, relacionando o APR com a concentração de leveduras e o tempo de FSS no substrato_RM.

As equações de regressão que representam os efeitos da FSS sobre o APR, são as seguintes: $APR_{2\% \text{ lev.}} = -0,0021x^2 + 0,2599x - 0,9573$ ($R^2 = 69\%$); $APR_{4\% \text{ lev.}} = -0,0065x^2 + 0,6427x + 0,3302$ ($R^2 = 98\%$); $APR_{6\% \text{ lev.}} = -0,0105x^2 + 0,8354x + 0,8234$ ($R^2 = 92,4\%$).

A cinética da FSS observada no presente trabalho, corrobora com estudos conduzidos por Oliveira (2007), utilizando a casca do maracujá como substrato para leveduras, no qual houve aumento dos teores de PB até às 48 horas de FSS e em seguida foi verificada uma acentuada diminuição nestas quantidades, após atingir o pico de enriquecimento proteico. Segundo ARAÚJO (2004), essa diminuição pode ser atribuída a uma provável perda de N_2 , por volatilização de amônia (contaminação de bactérias) e desnaturação da proteína do microrganismo. Os compostos orgânicos em processo de decomposição podem sofrer ação de bactérias que os convertem em nitrato, amônia ou até mesmo nitrogênio gasoso, capaz de retornar à atmosfera (SANTOS, 2018).

Santana et al. (2017), avaliaram o enriquecimento proteico de resíduo agroindustrial de abacaxi por *Saccharomyces cerevisiae* e concluíram que o teor máximo de proteína foi obtido em 48 horas de fermentação, tempo superior ao que foi identificado no presente trabalho. Outros autores também têm demonstrado esse mesmo efeito ao estudarem o enriquecimento proteico de resíduos agroindustriais, apontando que às 48 horas de fermentação foram obtidos os valores máximos de PB pela bioconversão (SILVA et al., 2016; LUCIANO et al., 2014; ALEXANDRE et al., 2013; OLIVEIRA, 2007). No entanto, nesses trabalhos não foram realizadas as equações derivadas para estimar o tempo que proporciona o máximo teor de proteína, limitando-se aos valores coletados nas amostragens. Em virtude disso, tais autores têm generalizado que o tempo ideal é 48 horas.

A aceleração do processo de FSS em função de maiores quantidades de leveduras inoculadas ao substrato, se deve ao favorecimento da fase inicial de fermentação, na qual o crescimento exponencial das leveduras acontece em menor intervalo de tempo já que o aumento das concentrações de leveduras terá influência direta na biomassa microbiana e, por consequência, no consumo dos carboidratos disponíveis, fazendo com que a bioconversão seja concluída precocemente. Outros autores também afirmam em seus trabalhos que a eficiência do processo de bioconversão é potencializada com o aumento da adição de leveduras (CAMPOS et al., 2005; OLIVEIRA JÚNIOR, et al., 2016; OLIVEIRA, 2007).

b. Fibra em Detergente Neutro (FDN) e Fibra em Detergente Ácido (FDA)

As diferentes concentrações de leveduras, o tempo de FSS e a interação entre esses dois fatores, exerceram influência sobre as quantidades de FDN presentes no substrato_RM (figura 6).

Houve uma gradativa redução na quantidade de FDN em todos os tratamentos ao longo do período de FSS.

Tabela 10 – Quadrados médios da análise de variância referente à quantidade de FDN presente no substrato_RM após FSS por *Saccharomyces cerevisiae*:

O valor médio inicial foi de 56,52% de FDN no substrato_RM, antes do processo de FSS. Considerando o tempo otimizado de fermentação, no qual

Fontes de variação	GL	SQM	QM	F cal
Conc. de leveduras	3	33.521546	11.173849	14.36***
Tempo	3	270.580646	90.193549	115.94***
Conc. de leveduras x Tempo	9	54.033271	6.003697	7.72***
Resíduo	80	62.233733	0.777922	
CV (%)	1,64			
Média geral	53,64			

*** = significativo a 0,1% de probabilidade
representou o máximo acúmulo de PB no substrato em cada uma das concentrações de leveduras estudadas, os valores de FDN foram 51,63% em 53,3 horas; 51,06% em 51,1 horas; e 52,28% em 41,3 horas para os tratamentos inoculados com 2, 4 e 6% de *Sacharomyces cerevisiae*, respectivamente.

Embora tenham sido identificadas diferenças nas quantidades de FDN, os valores oscilaram em uma amplitude pequena, que não resulta em restrições para o consumo por animais ruminantes.

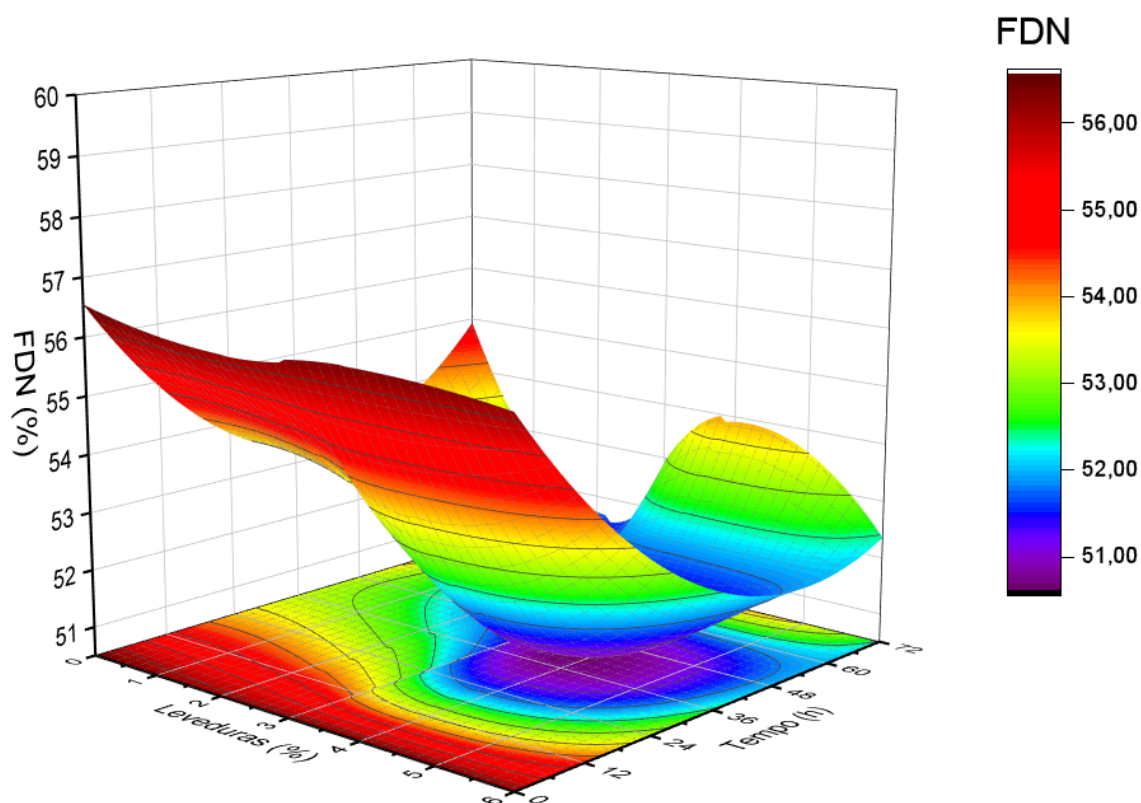


Figura 6 – Gráficos de FDN no substrato_RM sob FSS com diferentes concentrações de leveduras inoculadas.

Quanto aos valores de FDA, estes diferiram entre os tratamentos em função das concentrações de leveduras e também ao longo do tempo de FSS, conforme a análise de variância (tabela 11).

Antes do processo de FSS, a quantidade inicial era de 39,19% de FDA, Houve decréscimo à medida que foram elevadas as concentrações de leveduras (figura 7A). O mesmo foi observado no intervalo de 72 horas de FSS, onde a perda foi de 2,9% em relação à quantidade inicial (figura 7B). A simples redução dos valores de FDA, em decorrência da FSS do substrato_RM, não implica em restrições ao consumo, pois os valores se encontram dentro de uma amplitude comum às silagens tradicionais, como por exemplo silagem de milho e sorgo (MIZUBUTI et al., 2002; AVELINO et al., 2011; VIEIRA et al., 2013).

Tabela 11 – Quadrados médios da análise de variância referente à quantidade de FDA presente no substrato_RM após FSS por *Saccharomyces cerevisiae*

Fontes de variação	GL	SQM	QM	F cal
Conc. de leveduras	3	73,078817	24,359606	7,97***
Tempo	3	131,992683	43,997561	14,39***
Conc. de leveduras x Tempo	9	49,354750	5,483861	1,794 ^{ns}
Resíduo	80	244,525200	3,056565	
CV (%)	4,70			
Média geral	37,17			

^{ns} = não significativo a 5% de probabilidade pelo Teste F; *** = significativo a 0,1% de probabilidade

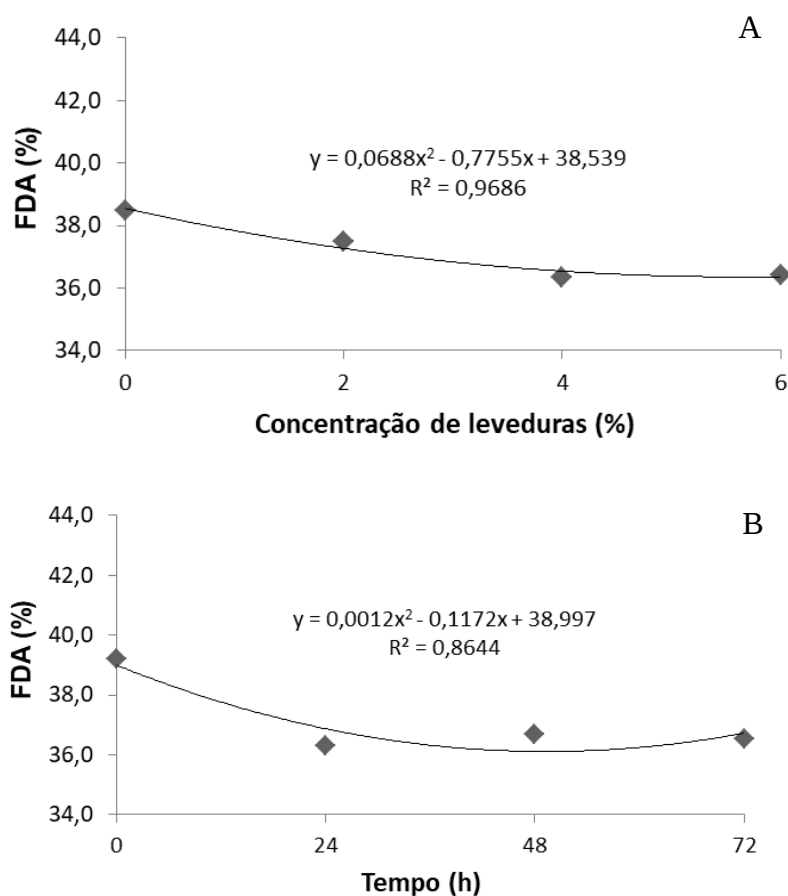


Figura 7 – Gráfico de FDA no substrato_RM sob FSS em diferentes concentrações de leveduras (A) e intervalos de tempo (B).

Os teores encontrados no presente trabalho se aproximam dos valores citados por Lira Júnior (2011), 47% de FDN e 34% de FDA, na silagem de resíduo agroindustrial de maracujá, também corrobora com o teor de FDN observado no resíduo de maracujá, bioconvertido por FSS, encontrado por Oliveira (2007). Já o teor de FDA está abaixo dos valores encontrados por Neiva Júnior (2005) e Oliveira (2007).

c. Matéria Seca

A quantidade de matéria seca (MS) do substrato_RM foi influenciada pelas concentrações de leveduras, pelo tempo de FSS, havendo interação entre esses fatores (tabela 12).

Tabela 12 – Quadrados médios da análise de variância referente à quantidade de matéria seca presente no substrato_RM após FSS por *Saccharomyces cerevisiae*

Fontes de variação	GL	SQM	QM	F cal
Conc. de leveduras	3	13,616033	4,538678	20,076***
Tempo	3	41,665733	13,888578	61,432***
Conc. de leveduras x Tempo	9	5,168167	0,574241	2,54**
Resíduo	80	18,086400	0,226080	
CV (%)	3,67			
Média geral	12,94			

** = significativo a 1% de probabilidade pelo Teste F; *** = significativo a 0,1% de probabilidade

Foram observadas ascensões nas quantidades de MS à medida que se elevou a quantidade de leveduras inoculadas, este fato ocorreu devido a maior intensidade da FSS nos tratamentos com inoculação, onde as leveduras ao eliminarem água, resultante do consumo de carboidratos pelos microrganismos, contribuiu para a desidratação do substrato. Porém, este aumento na quantidade de MS foi pequeno e não ultrapassou 1%, entre as diferentes concentrações de leveduras estudadas (figura 8).

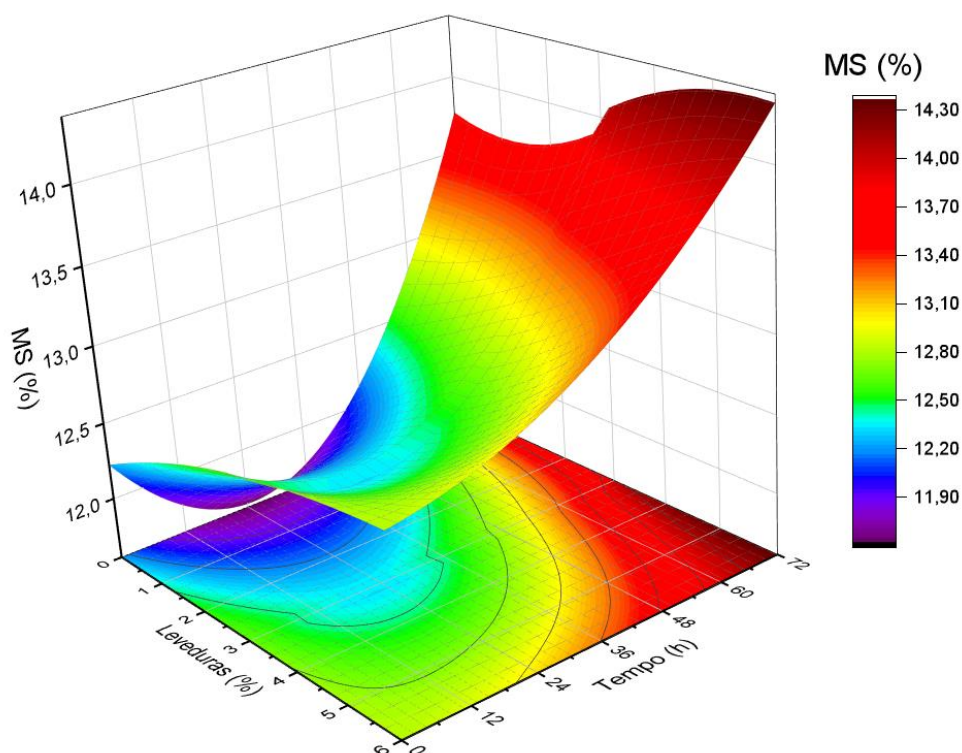


Figura 8 – Gráfico de matéria seca do substrato_RM em função do tempo de FSS e diferentes concentrações de leveduras

Paralelamente ao avanço da FSS houve aumento na quantidade de MS, sendo que o intervalo entre 48 e 72 horas foi marcado por maior elevação desta variável, certamente pelo efeito acumulativo da deterioração do substrato por microrganismos decompositores que atuaram expressivamente neste intervalo temporal, intensificando a perda de água decorrente do metabolismo de respiração.

O aumento no teor de matéria seca corrobora com trabalhos desenvolvidos por Silva et al. (2016) e Santana Neto et al. (2017).

d. Material Mineral

As diferentes concentrações de leveduras inoculadas, o tempo de FSS e a interação entre ambos os fatores influenciaram na quantidade de material mineral contido no substrato_RM, conforme análise de variância da tabela 13.

A quantidade de MM acompanhou a curva de evolução da FSS, havendo incrementos que coincidiram com pico de crescimento de microrganismos e acúmulo de PB.

Tabela 13 – Quadrados médios da análise de variância referente à quantidade de material mineral presente no substrato_RM em função da FSS por *Saccharomyces cerevisiae*

Fontes de variação	GL	SQM	QM	F cal
Conc. de leveduras	3	2,408546	0,802849	7,8 ***
Tempo	3	52,341713	17,447238	169,1 ***
Conc. de leveduras x Tempo	9	2,367437	0,263049	2,6**
Resíduo	80	8,253600	0,103170	
CV (%)	2,93			
Média geral	10,98			

** = significativo a 1% de probabilidade pelo Teste F; *** = significativo a 0,1% de probabilidade

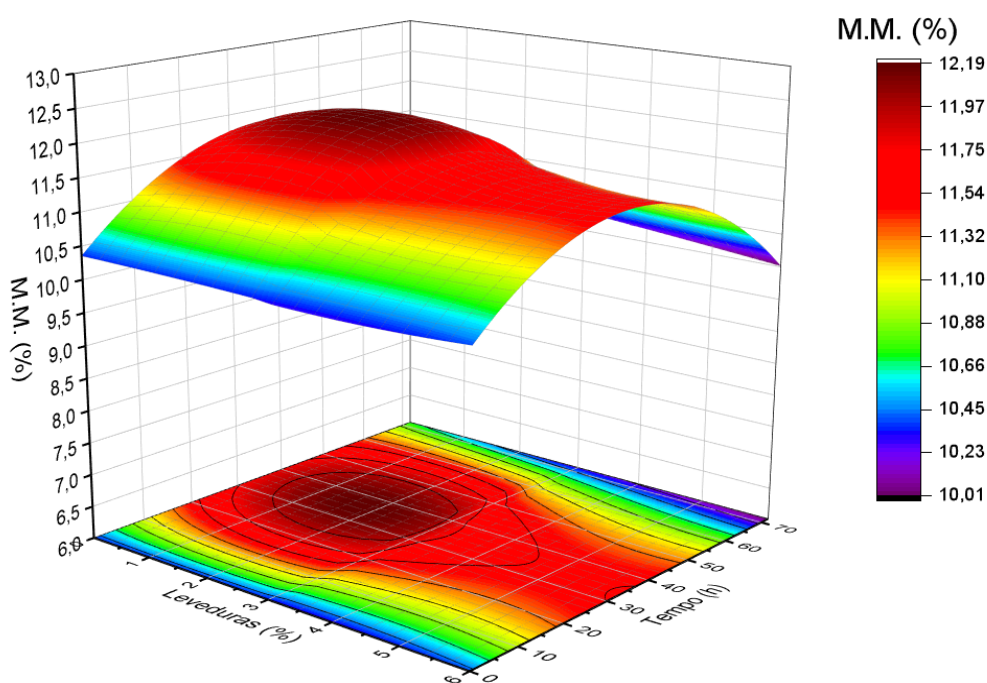


Figura 9 – Gráfico de material mineral do substrato_RM em função do tempo de FSS

As equações que descrevem os efeitos observados nos tratamentos estão apresentadas na tabela 14.

Tabela 14 - Equações de regressão quadrática para a variável material mineral em função de diferentes concentrações de leveduras sob FSS:

Concentração de leveduras	Equação	R ²
0%	$y = -0,000984x^2 + 0,075861x + 10,354$	73,60%
2%	$y = -0,001405x^2 + 0,101549x + 10,347$	83,16%
4%	$y = -0,001046x^2 + 0,073993x + 10,299$	62,11%
6%	$y = -0,001034x^2 + 0,069188x + 10,392$	84,39%

Os valores encontrados se aproximam daqueles verificados por Lira Júnior (2011) na silagem de resíduo de maracujá e por Oliveira (2007) após FSS do resíduo de maracujá por *Saccharomyces cerevisiae*.

e. Extrato Etéreo

As quantidades de extrato etéreo (EE) encontradas no substrato_RM foram influenciadas pelo tempo de FSS e pela interação entre o tempo e a concentração de leveduras inoculadas.

Tabela 15 – Quadrados médios da análise de variância referente à quantidade de extrato etéreo presente no substrato_RM em função da FSS por *Saccharomyces cerevisiae*

Fontes de variação	GL	SQM	QM	F cal
Conc. de leveduras	3	2,354033	0,784678	2,56 ns
Tempo	3	23,626633	7,875544	25,69 ***
Conc. de leveduras x Tempo	9	14,607533	1,623059	5,29 ***
Resíduo	80	24,516000	0,306450	
CV (%)	7,57			
Média geral	7,31			

^{ns} = não significativo a 5% de probabilidade; *** = significativo a 0,1% de probabilidade pelo Teste F

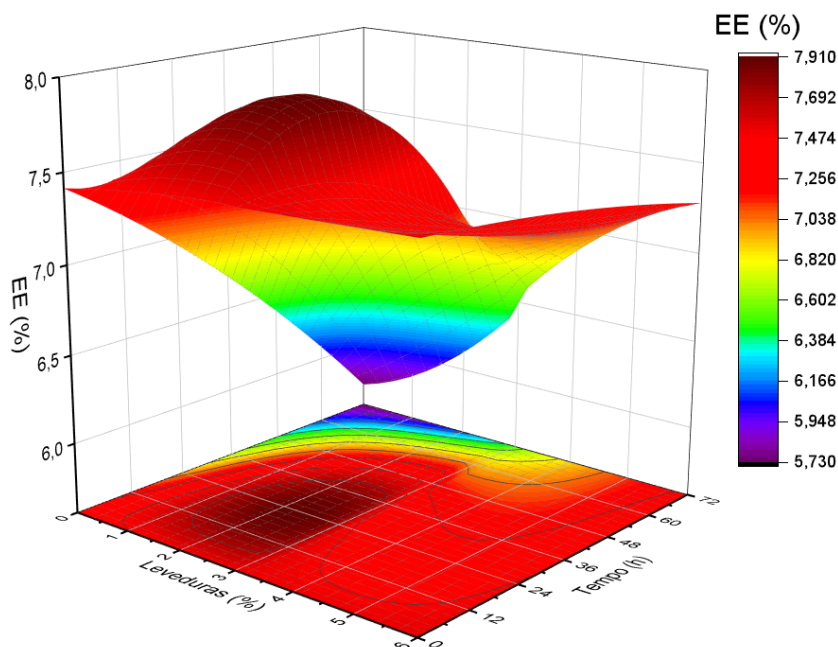


Figura 10 – Gráfico de extrato etéreo do substrato_RM em função da FSS

Houve uma redução gradual para esta variável ao relacionada à combinação de níveis mais baixos de concentração de leveduras e aumento do tempo de FSS. As quantidades de EE estão de acordo com os teores descritos por Santos (1995) para o resíduo *in natura* do maracujá e também com os resultados obtidos por Oliveira (2007), ao avaliar o enriquecimento proteico da casca de maracujá sob FSS por leveduras.

Verifica-se na figura 10 que todos os teores de EE encontrados, independentemente do tempo FSS, estão abaixo do limite de 8%, recomendado por McGuffey e Schingoethe (1980), para que não ocorra redução na ingestão de alimento, diminuindo o desempenho animal.

6. Conclusão

A fermentação semissólida através de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) eleva a concentração de proteína bruta no resíduo de maracujá pós-ensilado, sendo a inoculação de 6% de leveduras e o tempo de FSS de 41,1 horas a forma mais eficaz de fazer o enriquecimento proteico, nas condições estudadas. Porém, fazem-se necessários estudos de desempenho animal para melhor avaliação desse processo.

7. Referências

- ALCÂNTARA, S. R. et al. Emprego do Bagaço Seco Do Pedúnculo Do Caju Para Posterior Utilização em um Processo de Fermentação Semi-Sólida. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande-PB, v.9, n.2, p.137-142, 2007.
- ALEXANDRE, H. V. et al. Cinética de secagem do resíduo de abacaxi enriquecido. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.17, n.6, p. 640–646, 2013.
- AMORIM, R. N. L. **Consumo, Digestibilidade, Desempenho e Características da carcaça de Ovinos Alimentados com Resíduo do Maracujá (*Passiflora edulis* L.) em Substituição ao Milho**. 2015. 56 f. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró-RN, 2015.
- ARAÚJO, L. de F.; MEDEIROS, A. N. de; PERAZZO NETO, A.; CONRADO, L. DE S.; SILVA, F. L. H. Protein enrichment of cactus Pear (*Opuntia ficus - indica* Mill) using *Saccharomyces cerevisiae* in solid-state fermentation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.48, n.special, p.161-168, 2004.
- ARAÚJO, L. F. et al. Enriquecimento Nutricional da Casca da Mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) por processo biotecnológico destinado à alimentação animal. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, Botucatu-SP, v. 13, n. 1, p. 18-30, 2017.
- AVELINO, P. M. et al. Composição bromatológica de silagens de híbridos de sorgo cultivados em diferentes densidades de plantas. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza-CE, v. 42, n. 1, p. 208-215, 2011.
- BONFÁ, C.S.; CASTRO, G.H.F.; VILLELA, S.D.J.; SANTOS, R.A.; EVANGELISTA, A.R.; JAYME, C.G.; GONÇALVES, L.C.; PIRES NETO, O.S.; BARBOSA, J.A.S. **Silagem de Capim-Elefante Adicionada de Casca de Maracujá**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.67, n.3, p.801-808, 2015.
- CAMPOS, A. R. N. et al. Enriquecimento protéico do bagaço do pendúnculo de caju por cultivo semi-sólido. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, São Cristóvão-SE, v. 5, n. 2. 2005.
- LIRA JÚNIOR, W. B. **Composição Bromatológica e Padrão Fermentativo de Silagem de Capim-Elefante cv Roxo Sob Níveis de Inclusão de Casca de Maracujá e Tempos de Emurchecimento**. 2011. 39 f. Dissertação (mestrado)-Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo-AL, 2011.
- LUCIANO, R. C. et al. Enriquecimento proteico de resíduos do abacaxi para alimentação alternativa de ruminantes. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa-PB, v.8, n.4, p.47-52, 2014.
- McGUFFEY, R.K.; SCHINGOETHE, D.J. Feeding value of a high oil variety of sunflowers as silage to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.63, n.7, p.1109-1113, 1980.

MIZUBUTI, I. Y. et al. Consumo e Digestibilidade Aparente das Silagens de Milho (*Zea mays* L.), Sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) e Girassol (*Helianthus annuus* L.). **Revista Brasileira Zootecnia**, Brasília-DF, v.31, n.1, p.267-272, 2002.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, DC: National Academy Press, 2001. 381p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 6.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1984. 90p.

NEIVA JÚNIOR, A. P. **Qualidade da silagem do resíduo do fruto de maracujá amarelo nas formas pura e em mistura com aditivos**. 2005. 67 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2005.

OLIVEIRA JÚNIOR, J. C. et al. Enriquecimento Proteico da Palma Forrageira e da Algaroba por Fermentação Semissólida. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA E ENSINO EM CIÊNCIAS, 2016, Campina Grande-PB. Disponível em: <http://www.editorarealize.com.br/revistas/conapesc/trabalhos/TRABALHO_EV058_MD4_SA80_ID2019_17052016202313.pdf> Acesso em: 10/12/2017.

OLIVEIRA, M. M. **Enriquecimento nutricional por bioconversão de resíduos agroindustriais para utilização na alimentação animal**. 2007. 121 f. Tese (doutorado)- Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande-PB, 2007.

SANTANA NETO, D. C. et al. Avaliação do processo de enriquecimento proteico de resíduo de abacaxi. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal-PB, v.12, n.1, p.95-99, 2017.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa- MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p

SILVA, G.M.S. et al. Enriquecimento proteico do resíduo de abacaxi mediante fermentação semissólida. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal-PB, v.11, n 5, p. 39-44, 2016.

SNIFFEN, C.J.; BEVERLY, R.W.; MOONEY, C.S. et al. Nutrient requirements versus supply in the dairy cow: strategies to account for variability. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.3160-3178. 1993.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminants**. 2. ed. Ithaca: Cornell University, 1994. 476p.

VIEIRA, V. C. Caracterização bromatológica de silagens de milho de genótipos super precoce. **Ciência Rural**, Santa Maria-RS, v.43, n.11, 2013.

WILSON, J.R.; KENNEDY, P.M. Plant and animal constraints to voluntary intake associated with fiber characteristics and particle breakdown and passage in ruminants. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.47, p.199-225, 1996.

8. APÊNDICE

COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DOS TRATAMENTOS OTIMIZADOS

8.1 Composição bromatológica dos tratamentos otimizados

A composição bromatológica dos tratamentos otimizados, considerando os intervalos que proporcionaram os maiores incrementos de PB no substrato em função da FSS, estão elencados na tabela abaixo.

Tabela 16 – Composição bromatológica dos tratamentos otimizados pelo tempo de FSS com máximo incremento proteico:

Variável	Concentração de leveduras			
	0%	2%	4%	6%
Tempo (h) de FSS	NS	53,3	51,1	41,3
Proteína bruta (%)	7,3	8,7	11,1	12,8
AP relativo (%)	0	6,0	16,4	17,7
Matéria seca (%)	12,6	12,9	12,9	12,6
Material mineral (%)	10,51	11,5	11,6	11,8
FDN (%)	54,6	51,6	51,1	52,3
FDA (%)	39,2	36,2	36,1	36,2
Extrato etéreo (%)	7,5	7,2	7,2	7,3

O teor de 7,3% de PB encontrado no tratamento sem inoculação de levedura está muito próximo no limite mínimo para ruminantes, segundo Van Soest (1994), a ingestão de PB abaixo de 7% na MS proporciona menor desempenho animal.

A deficiência de nitrogênio no rúmen pode afetar o consumo de MS em bovinos por resultar em menor crescimento da microbiota ruminal, por não atender os seus requisitos nutricionais (SNIFFEN et al., 1993). Com o menor crescimento microbiano, ocorre diminuição na digestão da parede celular e no consumo (WILSON e KENNEDY, 1996).

Valadares et al. (1997), ao fornecerem dietas com diferentes teores proteicos a novilhos zebuínos, verificaram que o nível de 7% de PB diminuiu o consumo de MS, provavelmente porque esse teor de proteína foi insuficiente para promover o crescimento microbiano adequado. Por outro lado, a ingestão em excesso de PB está relacionada ao maior custo da dieta e à maior excreção de ureia na urina com desperdício de proteína e energia (PAIVA et al., 2013).

Considerando que a recomendação do NRC (1984) para bovinos em terminação é de 12% de PB na MS, as quantidades encontradas no substrato_RM submetido à FSS com 6% de leveduras, por obter 12,8% de PB em 41 horas de

FSS, pode ser uma alternativa viável para alimentação alternativa. Porém, fazem-se necessários estudos de desempenho nestes animais para, a partir daí, haver recomendações seguras aos criadores, sobre as quantidades do resíduo de maracujá bioconvertido para alimentação de animais ruminantes.

8.2 Referências

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of beef cattle. 6.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1984. 90p.

PAIVA, V. R. et al. Teores preteicos em dietas para vacas holandesas leiteiras em confinamento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte-MG, v. 65, n. 4, p.1183-1191, 2013.

SNIFFEN, C.J.; BEVERLY, R.W.; MOONEY, C.S. et al. Nutrient requirements versus supply in the dairy cow: strategies to account for variability. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.3160-3178. 1993.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminants**. 2. ed. Ithaca: Cornell University, 1994. 476p.

WILSON, J.R.; KENNEDY, P.M. Plant and animal constraints to voluntary intake associated with fiber characteristics and particle breakdown and passage in ruminants. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.47, p.199-225, 1996.

WILSON, J.R.; KENNEDY, P.M. Plant and animal constraints to voluntary intake associated with fiber characteristics and particle breakdown and passage in ruminants. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.47, p.199-225, 1996.