

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS – UFGD
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

CLAUDIOMIRA ZARDO PALACIO REVELLO

**AVALIAÇÃO DO VALOR NUTRICIONAL DE
RESÍDUOS DO PROCESSAMENTO DA MACAÚBA
(*Acrocomia aculeata*) E DE SEUS PRODUTOS DE
BIOCONVERSÃO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
AMBIENTAL**

DOURADOS/MS

MARÇO/2014

CLAUDIOMIRA ZARDO PALACIO REVELLO

**AVALIAÇÃO DO VALOR NUTRICIONAL DE
RESÍDUOS DO PROCESSAMENTO DA MACAÚBA
(*Acrocomia aculeata*) E DE SEUS PRODUTOS DE
BIOCONVERSÃO**

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Rozanna Marques Muzzi

Co-orientador:

Prof. Dr. Gleison Antonio Casagrande

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, da Universidade Federal da Grande Dourados, como um dos requisitos necessários para a obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental, na área de concentração Tecnologia Ambiental.

Dourados/MS

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da UFGD, Dourados, MS, Brasil

R451a Revello, Claudiomira Zardo Palacio.
Avaliação do valor nutricional de resíduos do processamento da macaúba (*Acrocomia aculeata*) e de seus produtos de bioconversão / Claudiomira Zardo Palacio Revello – Dourados, MS : UFGD, 2014.
66 f.

Orientadora: Profa. Dra. Rozanna Marques Muzzi.
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Federal da Grande Dourados.

1. Macaúba. 2. Farelo de macaúba. 3. Plantas do cerrado. I. Muzzi, Rozanna Marques. II. Título.

CDD: 633



Termo de Aprovação

Após apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora, foi emitido o parecer APROVADO, para a dissertação intitulada: **“Avaliação do valor nutricional de resíduos do processamento da macaúba (*Acrocomia aculeata*) e de seus produtos de bioconversão”**, de autoria de **Claudiomira Zardo Palacio Revello**, apresentada ao Programa de Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Grande Dourados.

Prof. Dra. Rozanna Marques Muzzi
(Orientadora - UFGD)
Presidente da Banca Examinadora

Prof. Dr. Alex Haroldo Jeller
Membro Examinador (UEMS)

Prof. Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite
Membro Examinador (UFGD)

Dourados/MS, 13 de março de 2014.

*“Não somos apenas o que pensamos ser.
Somos mais; somos também, o que lembramos e
aquilo de que nos esquecemos; somos as
palavras que trocamos, os enganos que
cometemos, os impulsos a que cedemos, “sem
querer”.*

Sigmund Freud

Ao meu esposo Jaime Humberto e nossos filhos:

Maria Victória e Luis Fernando com todo meu amor

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, pela saúde física e mental e por sempre iluminar o meu caminho.

Ao meu marido, Jaime Humberto, pela contribuição tão pertinente em todo o trabalho, por ter dedicado seu tempo para mim, tornando cada capítulo mais completo.

Aos meus filhos, lindos, por existirem e fazer os meus dias muito especiais.

Aos meus pais, Aldemiro e Elvira, e a cada um de meus irmãos (ãs), sobrinhos (as), cunhados (as) e em geral a toda a família Zardo, pelo amor, incentivo e apoio que contribuíram para o sucesso de mais uma etapa da minha vida.

Aos meus sogros, Humberto e Maria Victoria, e em geral a toda a família Palacio Revello, pela força e carinho que mesmo tão distantes fisicamente se fizeram sempre presentes.

A dona Tereza, minha querida vizinha, pela amizade e pelos ensinamentos de vida que me transmite dia a dia, facilitando muito meus passos e decisões. Você é muito importante para mim!!!

A minha orientadora, Prof^a. Rozanna, por ter confiado em mim e me norteado no decorrer deste trabalho.

Ao Professor Marcelo Paz, sua esposa Regiane e ao pequeno Yuri, que se tornaram grandes amigos e incentivadores; além da grande ajuda recebida do Prof. Marcelo nos experimentos e pelas valiosas sugestões. Valeu!

A todo pessoal do Laboratório de Nutrição Animal da UFGD, em especial ao professor Rafael Henrique de Tonissi Buschinelli de Goes pela contribuição na análise dos resultados e a Gisa, pela valiosa ajuda na parte experimental, na preparação de minhas soluções e execução de análises.

Ao professor Jorge Luíz Raposo Junior pela contribuição nas análises de minerais e por ter disponibilizado o Laboratório de Cromatografia e Espectrometria Aplicada-LECA na execução das mesmas e, em especial a Vanessa Peronico pela ajuda nos experimentos e por toda a atenção recebida.

A todos que contribuíram de uma forma ou de outra, para a realização deste trabalho.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Análise química das tortas residuais do coco macaúba.....	10
Tabela 2	- Parâmetros instrumentais do espectrômetro AA 240FS utilizados para determinação de Cu, Fe, Mn, Zn, Ca e Mg em todas as medidas experimentais.....	40
Tabela 3	- Granulometria das amostras de farelo da polpa e amêndoa trituradas em liquidificador industrial.....	42
Tabela 4	- Composição centesimal das análises realizadas nos resíduos da extração do óleo de macaúba (<i>Acrocomia aculeata</i>) em base úmida.....	43
Tabela 5	- Composição centesimal das análises realizadas nos resíduos da extração do óleo de macaúba (<i>Acrocomia aculeata</i>) em base seca.....	44
Tabela 6	- Dados da composição centesimal de alguns parâmetros das amostras de farelo da polpa, farelo da amêndoa e epicarpo da macaúba (<i>Acrocomia aculeata</i>) em publicações encontradas na literatura.....	47
Tabela 7	- Composição centesimal, em base úmida, das amostras de farelo de amêndoa de macaúba (<i>Acrocomia aculeata</i>) <i>in natura</i> e tostada, enriquecidas com fungo <i>Pleurotus ostreatus</i> e <i>Pleurotus sajor-caju</i>	52
Tabela 8	- Composição centesimal, em base seca, das amostras de farelo de amêndoa de macaúba (<i>Acrocomia aculeata</i>) <i>in natura</i> e tostada, enriquecidas com fungo <i>Pleurotus ostreatus</i> e <i>Pleurotus sajor-caju</i>	53
Tabela 9	- Elementos minerais determinados, limite de quantificação, parâmetros da curva analítica – equação da curva analítica e coeficiente de correlação.....	55
Tabela 10	- Teores de minerais: - farelos da polpa e amêndoa, <i>in natura</i> e tostados; - epicarpo; - farelo de amêndoa, <i>in natura</i> e tostado, enriquecidos com os fungos <i>Pleurotus ostreatus</i> e <i>Pleurotus sajor-caju</i>	56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Palmeira macaúba (a) e cacho com frutos (b).....	6
Figura 2	- Tronco da macaúba com os espinhos (a), frutos com e sem casca (b) e, frutos com corte perpendicular, sendo a parte mais interna a amêndoa, seguida do endocarpo, polpa e epicarpo (c).....	7
Figura 3	- Planejamento dos procedimentos para avaliação do farelo da polpa e da amêndoa, separadamente.....	28
Figura 4	- Planejamento dos procedimentos para avaliação do epicarpo.....	28
Figura 5	- Farelo da amêndoa: (a) <i>in natura</i> e (b) tostado; farelo da polpa: (c) <i>in natura</i> e (d) tostado e, e) epicarpo, da mesma forma em que foram inoculadas com os fungos.....	30
Figura 6	- Amostras de resíduos da extração de óleo da macaúba: (a) epicarpo e (b) farelo de amêndoa, após remoção da autoclave; e c) <i>spawn</i> do <i>Pleurotus sajor-caju</i> (PS) e <i>Pleurotus ostreatus</i> (PO), da forma como foram adquiridos pelo laboratório produtor de sementes.....	30
Figura 7	- Amostra de farelo: (a) da polpa, (b) da amêndoa e (c) epicarpo, após esterilização do material e inoculação dos fungos através de adição de pequena quantidade de <i>spawn</i> dos mesmos.....	49
Figura 8	- Crescimento gradativo dos fungos nas amostras de farelo da amêndoa: (a) terceiro, (b) quinto, (c) sétimo e (d) décimo dia de incubação, respectivamente.....	50
Figura 9	- Amostras de farelo de amêndoa com: (a) 14, (b) 21 e (c) 24 dias de incubação, respectivamente.....	50
Figura 10	- Amostra do farelo de amêndoa com o fungo já incorporado, após 24 dias de incubação (a) e o mesmo após secagem em estufa (b).....	51
Figura 11	- Exemplificação da contaminação fúngica ocorrida em algumas amostras.....	51
Figura 12	- Resultados dos parâmetros analisados para o farelo de amêndoa <i>in natura</i> : sem fungos e após inoculação com fungos: PO (<i>Pleurotus ostreatus</i>) e OS (<i>Pleurotus sajor-caju</i>).....	54

Figura 13	- Resultados dos microminerais, Cu, Mn, Fe e Zn presentes para o farelo de amêndoa <i>in natura</i> : sem fungos e após inoculação com os fungos PO (<i>Pleurotus ostreatus</i>) e PS (<i>Pleurotus sajor-caju</i>).....	57
Figura 14	- Resultados dos macrominerais, Ca e Mg presentes para o farelo de amêndoa <i>in natura</i> : sem fungos e após inoculação com os fungos PO (<i>Pleurotus ostreatus</i>) e PS (<i>Pleurotus sajor-caju</i>).....	58

LISTA DE ABREVIATURAS

cm	- centímetros
DIVMS	- Digestibilidade <i>in vitro</i> da Matéria Seca
EE	- Extrato Etéreo
FB	- Fibra Bruta
FDA	- Fibra em Detergente Ácido
FDN	- Fibra em Detergente Neutro
FES	- Fermentação em Estado Sólido
L	- Litros
m	- metros
MJ	- megajoules
MM	- matéria mineral
MS	- Matéria seca
PB	- Proteína Bruta
PO	- <i>Pleurotus ostreatus</i>
PS	- <i>Pleurotus sajor-caju</i>

RESUMO

A *Acrocomia aculeata*, pertencente à família *Arecaceae*, é um fruto comumente encontrado no Cerrado brasileiro, conhecido como macaúba. Pode ser utilizado para o consumo *in natura* ou na forma de produtos, podendo também ser utilizados em diversas áreas distintas, como medicinais, alimentícias e na indústria de cosméticos. Existe uma boa expectativa em relação à potencialidade de aproveitamento dos resíduos da extração do óleo da macaúba, visto que na composição nutricional dos mesmos destacam-se os elevados teores de proteína e fibras do farelo da amêndoa, a alta digestibilidade do farelo da polpa e o percentual de ferro do epicarpo. Na atualidade os resíduos da agroindústria vêm sendo muito utilizados podendo ser considerados como produtos intermediários na obtenção de novos produtos com alto valor agregado, contribuindo assim, com as questões ambientais e de sustentabilidade. O presente trabalho teve como objetivo caracterizar o farelo da polpa, o farelo da amêndoa e o epicarpo da macaúba, enfatizando as principais propriedades dos frutos dessa palmeira como: cinzas, proteína bruta, fibra em detergente neutro e ácido, lignina, celulose, fibra bruta, extrato etéreo, digestibilidade *in vitro*, bem como os elementos minerais: cobre, manganês, ferro, zinco, cálcio e magnésio. Esta mesma caracterização foi realizada após submeter os mesmos resíduos a biodregadação por fungos filamentosos, *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju*, objetivando aumentar a digestibilidade e seu valor nutricional. Das amostras estudadas destacam-se os resultados do processo de bioconversão com o farelo da amêndoa, já que para as amostras de farelo da polpa (*in natura* e tostado) e epicarpo, não houve crescimento dos fungos. O farelo de amêndoa resultante da miceliação com fungos apresentou uma boa quantidade de proteínas (em torno de 26 a 29%) apontando um acréscimo de, no mínimo, 4% em relação à mesma amostra sem fungos. Também se destacam valores muito reduzidos, quando comparada à caracterização inicial, sem fungos, de fibra em detergente neutro, lignina, celulose e extrato etéreo, indicando ótimos níveis de enriquecimento dos parâmetros nutritivos e digestivos. Esse substrato foi inicialmente classificado como volumoso (fibra bruta > 18%), passando para concentrado (fibra bruta < 18%) e ainda classificado como proteico (proteína bruta > 20%), após o processo de bioconversão, o que o torna viável para uso em ração animal.

Palavras-chave: frutos do Cerrado, macaúba, farelo de macaúba; *Acrocomia aculeata*, alimentação animal, bioconversão, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju*

ABSTRACT

The *Acrocomia aculeata* belonging to the family of *Arecaceae*, is a fruit commonly found in the Brazilian *Cerrado*, known as *macaúba*. It can be used for *in natura* consumption or in processed products and may be used in many distinct areas such as medicinal, food, and cosmetic industry. There is a good expectation regarding the potential for the use of waste of oil extraction from *macaúba*, considering that in the nutritional composition of it stand out high levels of protein and almond fiber bran, high digestibility of pulp's bran and the percentage of iron from the epicarp. Nowadays, its agro-industrial residues have been widely used and can be considered as intermediary products to obtain new products with high added value; therefore, contributing to environmental and sustainability issues. The present study aimed to characterize the pulp bran, the almond bran and the epicarp of *macaúba*, emphasizing the main properties of the fruits of this palm such as: ashes, raw protein, neutral, and acid detergent fiber, lignin, cellulose, crude fiber, ethereal extract, *in vitro* digestibility, as well as mineral elements such as: copper, manganese, iron, zinc, calcium, and magnesium. The same characterization was performed after submitting the same wastes to biodegradation by microorganisms, *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju*, in order to increase their nutritional value. Among the studied samples there will be highlighted the results of the bioconversion process in the almond bran, because for the samples of the bran pulp (*in natura* and toasted) and epicarp, there were not fungal growth. The almond bran resulting from mycelium with fungi presented a good amount of protein (around 26-29%) indicating an increase of at least 4%, compared to the same sample without fungi. Also, there must be emphasized very low values compared to the initial characterization, without fungi, of fiber in neutral detergent, lignin, cellulose and ethereal extract, indicating great enrichment levels of nutritional and digestive parameters. This substrate was initially classified as roughage (crude fiber > 18%), going to concentrate (crude fiber < 18%) and further classified as protein (crude protein > 20%) after bioconversion process, which makes it affordable to use in animal feed.

Keywords: Cerrado fruits, macaúba, bran macaúba; *Acrocomia aculeata*, animal feed, bioconversion, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju*

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE ABREVIATURAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 2 - OBJETIVOS	3
2.1 OBJETIVO GERAL	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
CAPÍTULO 3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 CERRADO	4
3.2 MACAÚBA	6
3.2.1 As Pesquisas com a Macaúba	8
3.2.2 Usos do Fruto <i>in natura</i> e dos Resíduos do Processamento da Macaúba	9
3.3 FARELOS UTILIZADOS COMO ALIMENTOS	11
3.3.1 Qualidade da Alimentação Animal	14
3.3.2 Avaliação dos Padrões de Qualidade da Alimentação Animal	16
3.4 BIODEGRADAÇÃO POR BASIDIOMICETOS RESULTANDO NO ENRIQUECIMENTO DO FARELO	24
CAPÍTULO 4 - MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 BIOCONVERSÃO E ENRIQUECIMENTO POR MICROORGANISMOS	29
4.1.1 Preparo das Amostras	29
4.1.2 Inoculação e Crescimento Micelial	31
4.2 ANÁLISES PARA CARACTERIZAÇÃO INICIAL E APÓS ENRIQUECIMENTO COM FUNGO	31
4.2.1 Análises do Teor Nutricional	32
4.2.1.1 Matéria Seca	32
4.2.1.2 Cinzas ou Matéria Mineral	32
4.2.1.3 Proteína Bruta	32
4.2.1.4 Fibra em Detergente Neutro	33
4.2.1.5 Fibra em Detergente Ácido	34
4.2.1.6 Lignina	35

4.2.1.7 Celulose.....	36
4.2.1.8 Extrato Etéreo ou Gordura	36
4.2.1.9 Fibra Bruta.....	37
4.2.1.10 Digestibilidade <i>in vitro</i>	38
4.2.1.11 Determinação de Minerais.....	39
4.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	40
CAPÍTULO 5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1 TOSTAGEM.....	41
5.2 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA DOS FARELOS DA POLPA E AMÊNDOA	41
5.3 CARACTERIZAÇÃO INICIAL DAS AMOSTRAS.....	42
5.4 BIOCONVERSÃO E ENRIQUECIMENTO POR MICRORGANISMOS	48
5.4.1 Etapa de Esterilização e Inoculação com Fungos	48
5.4.2 Etapa de Crescimento Micelial	49
5.5 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS APÓS ENRIQUECIMENTO COM FUNGOS	52
5.6 ANÁLISE DE MINERAIS	55
CAPÍTULO 6 – CONCLUSÕES E SUGESTÕES	59
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

A macaúba (*Acrocomia aculeata*) desenvolve-se bem nos solos de Cerrado e, embora a presença desta espécie seja verificada em quase todas as regiões do território brasileiro, as maiores concentrações naturais da palmeira localizam-se nos estados de Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul.

Um dos aspectos importantes dessa oleaginosa em potencial é a possibilidade de aproveitamento integral dos subprodutos obtidos nas diversas fases do seu processamento industrial. Além da torta ou farelo, destinada ao balanceamento de ração animal, o endocarpo, de elevado poder calorífico representa uma alternativa para uso direto em caldeiras ou como matéria-prima destinada à produção de carvão mineral ou carvão ativado (CETEC, 1983).

A busca de alternativas alimentares, aliada a redução de excessivos danos ambientais evitando desperdícios, quer que sejam de recursos, de tempo ou de energia, são bons motivos para as pesquisas que vêm sendo desenvolvidas na questão de nutrição animal, tornando de suma importância a integração das atividades da agricultura com a produção animal, em seus mais variados aspectos (SILVA, 2005 apud BARRETO, 2008).

Mesmo que o desempenho animal seja dependente de fatores genéticos e ambientais, sabe-se que a eficiência alimentar também desempenha um importante fator no desenvolvimento dos mesmos, sobretudo quando se considera o uso de rações que possibilitem o máximo crescimento, devendo-se neste caso levar em consideração não apenas um único nutriente presente, mas o conjunto deles, bem como suas interações e ingestão máxima (SALMAN *et al.*, 2010).

Visando o aproveitamento dos resíduos da extração de óleos da macaúba em nutrição animal, nesse trabalho foram caracterizados os farelos da amêndoa e da polpa da macaúba, ambos na forma *in natura* e tostados. Esta caracterização inicial

realizada permite prever as propriedades nutricionais desse resíduo em relação aos principais parâmetros que interferem no desempenho do animal como, a composição químico-bromatológica e a digestibilidade dos nutrientes, citadas normalmente como fatores mais limitantes nos ingredientes de uma dieta.

Como de antemão se sabia da capacidade que algumas espécies de fungos têm em colonizar diferentes tipos de resíduos, normalmente pobres em nutrientes e ricos em fibras não digeríveis, e melhorar suas propriedades, em especial o teor de proteína, foi contemplado neste trabalho a biodegradação por microrganismos do farelo de macaúba, com a finalidade de se obter um composto mais indicado na formulação de rações animais.

CAPÍTULO 2 – OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo desta pesquisa é estudar a potencialidade de aproveitamento dos resíduos da extração do óleo da macaúba, nas formas *in natura* e enriquecida através da bioconversão, na formulação de ração animal.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os parâmetros nutricionais - massa seca (MS), cinzas ou matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina, celulose, extrato etéreo ou gordura bruta (EE), fibra bruta (FB), digestibilidade *in vitro* e minerais - do farelo da polpa e amêndoa, *in natura* e tostados e epicarpo;
- Avaliar o potencial de crescimento (miceliação) de dois tipos de fungos comestíveis, *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju*, nas amostras do farelo da polpa e amêndoa, *in natura* e tostados e epicarpo;
- Avaliar os parâmetros nutricionais do farelo da polpa e amêndoa, *in natura* e tostados e epicarpo após enriquecimento por técnicas de bioconversão (miceliação de fungos comestíveis).

CAPÍTULO 3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CERRADO

A contribuição do Cerrado para o equilíbrio ambiental é indiscutível. Esse bioma foi recentemente incluído entre um dos *hotspots* mundiais de biodiversidade devido a sua alta concentração de plantas endêmicas e rapidez com que está perdendo sua cobertura vegetal natural. Os *hotspots* são *habitats* naturais que correspondem a apenas 1,4% da superfície do planeta, onde se concentra cerca de 60% do patrimônio biológico do mundo. Esta lista inclui o Cerrado brasileiro e a Mata Atlântica (DURIGAN *et al.*, 2011).

O acelerado processo de desenvolvimento agrícola da região vem prejudicando a sustentabilidade desse ecossistema, favorecendo desequilíbrios ecológicos como erosão do solo, poluição ambiental e redução dos mananciais de água. A ação do homem, ao longo do tempo, através de queimadas e desmatamento, vem ocasionando danos à flora e à fauna, contribuindo de forma significativa para a extinção de muitas espécies animais e vegetais, dentre elas plantas nativas que são a base de sustentação da vida silvestre e fonte alimentar importante de índios e populações rurais. O risco que se corre é que se essa exploração indiscriminada continuar acontecendo, se grandes áreas continuarem a ser ocupadas pela agricultura mecanizada, muitas espécies poderão ser extintas antes mesmo de se tornarem conhecidas (SILVA *et al.*, 2001).

O Cerrado é a segunda maior formação vegetal brasileira, correspondendo a 23% do território sendo superado apenas pela Floresta Amazônica. São milhões de quilômetros quadrados espalhados pelos estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais, Piauí, Distrito Federal, Tocantins e parte dos estados da Bahia, Ceará, Maranhão, São Paulo, Paraná e Rondônia. Ocorre, também, em outras

áreas nos estados de Roraima, Pará, Amapá e Amazonas. A vegetação do Cerrado, em sua maior parte, se assemelha a savana tropical, na qual a vegetação herbácea se desenvolve com inúmeras outras formações florestais (normalmente arbustos e árvores esparsas). Apresenta rica biodiversidade de espécies frutíferas, cada uma com seu aroma, cor e sabor peculiar, além de compostos nutricionais e outras características, como propriedades funcionais, muito conhecidas pela crença popular. Por outro lado, verifica-se a necessidade de desenvolver e aperfeiçoar técnicas que favoreçam a exploração dessas espécies, com objetivo de comercializar seus frutos ou ainda, visando à produção de produtos que podem vir a ser uma alternativa de renda adicional para associações comunitárias ou cooperativas de pequenas propriedades rurais, valorizando assim os produtos da região e possibilitando uma forma de trabalho comunitário (MAROUELLI, 2003; PREVEDELLO e CARVALHO, 2006; CARVALHO, SOUZA e MACHADO, 2011).

Além do potencial econômico, as inúmeras espécies que compõem o Cerrado brasileiro também se destacam por poderem ser utilizadas no cardápio alimentar da população, cada um em seus percentuais em fonte de energia, vitaminas, sais minerais, ácidos graxos, etc. E como somatório a todos estes aspectos positivos têm-se ainda o seu valor medicinal, onde através da crença popular se associa o uso dessas plantas a significativas propriedades medicinais (ARISTONE e LEME, 2006).

Com a demanda crescente por óleos vegetais para as mais diversas finalidades, as palmeiras com frutos compostos por alto teor de óleo passam a ter acentuada importância nos dias atuais, destacando-se, dentre elas, a macaúba; palmeira típica do Cerrado brasileiro, cujo aproveitamento industrial ainda é pouco explorado, necessitando de desenvolvimento tecnológico em várias etapas da cadeia produtiva para se tornar matéria-prima para produção de biocombustíveis e alimentos (MOREIRA E SOUSA, 2009). A macaúba já apresenta comprovado valor agregado, seja no valor nutricional do fruto *in natura* ou na qualidade dos produtos que podem ser manufaturados através do processamento do resíduo de seus frutos (ARISTONE e LEME, 2006).

3.2 MACAÚBA

A macaúba, conforme Cargnin, Junqueira e Fogaça (2008), também conhecida por “Bocaiúva, Macaúva, Bocajá, Mucajá, Macaíba, Coquinho, Coco-de-espinho” e outros nomes regionalizados, é uma palmeira rústica pertencente à família *Arecaceae*, ex-*Palmae*, cujo nome científico é *Acrocomia aculeata*, encontrando-se distribuída ao longo da América tropical e subtropical, desde o sul do México e Antilhas até a região Sul, incluindo Brasil, Argentina e Paraguai, sendo mais abundantes na região do Cerrado.

No Brasil sua área de abrangência se estende nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e por todo o Centro-Oeste, Norte e Nordeste. Também pode ser encontrada no estado do Paraná, porém em menor proporção (ARISTONE e LEME, 2006). A Figura 1 ilustra a palmeira macaúba e seus frutos.

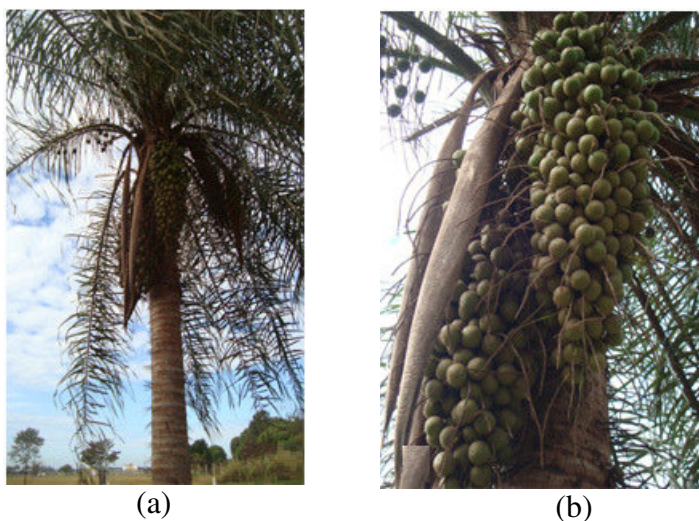


Figura 1 – Palmeira macaúba (a) e cacho com frutos (b).
Fonte: Ramiro, 2010.

O caule da macaúba pode atingir 20 m de altura e de 20 a 30 cm de diâmetro e normalmente possui espinhos escuros, pontiagudos, com cerca de 10 cm de comprimento, em especial próximos ao topo. O fruto da macaúba é esférico, ligeiramente achatado e apresenta de 3,0 a 6,0 cm de diâmetro, sendo composto pela casca externa (epicarpo), polpa (mesocarpo), casca interna (endocarpo) e uma amêndoa (albúmen). O epicarpo, de cor marrom claro, tendendo ao amarelo, se

rompe facilmente quando o fruto está maduro; o mesocarpo varia de cor amarelo-esverdeada a amarelo-alaranjada, comestível, fibroso e viscoso, de sabor adocicado e rico em lipídeos e glicerídeos; o endocarpo fica fortemente aderido à polpa, tem coloração marrom, é duro e formado principalmente por lignina, celulose e hemicelulose, este por sua vez envolve o albúmen (amêndoa), comestível e de elevado teor de óleo e proteína (ANDRADE *et al.*, 2004; LORENZI e NEGRELLE, 2006).

A Figura 2 ilustra partes específicas dos frutos da *A. aculeata*.

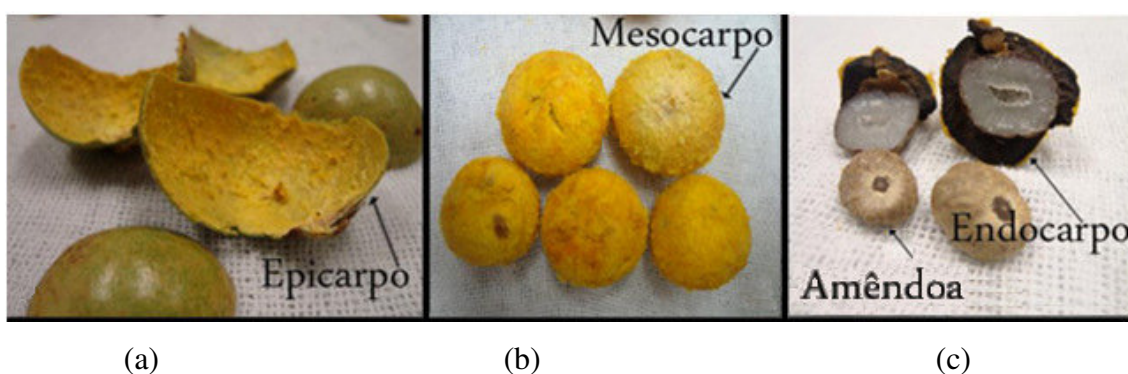


Figura 2 – Epicarpo do fruto (a), mesocarpo ou polpa do fruto (b) e, a parte mais interna a amêndoa, seguida do endocarpo (c).
Fonte: Ramiro, 2010.

A macaúba é a segunda oleaginosa mais produtiva, com rendimento em torno de 20% de óleo no fruto fresco, ficando atrás apenas de outra palmeira, o dendê (*Elaeis guinnensis*). O Brasil é o maior produtor de soja do mundo, porém da soja são obtidos apenas 400 L de óleo/ha, enquanto o girassol e o amendoim rendem o dobro. Pesquisas mostram outras matérias-primas alternativas, em ordem crescente de produção por hectare/ano: lavouras de milho (160 L), algodão (250 L), mamona (1.200 L), babaçu (1.600 L), pequi (3.100 L), macaúba (4.000 L) e dendê (5.950 L). Se confrontadas essas informações percebe-se outras oleaginosas com vantagens competitivas que estão em crescente expansão de estudos e potenciais elevados de produção (UDAETA *et al.*, 2008 apud BARRETO, 2008; ASTÚRIAS, 2004 apud AMARAL, 2007).

Assim como com outras oleaginosas, o processamento da macaúba compreende diversas fases que vão desde a produção e colheita do coco até o beneficiamento final dos produtos derivados, porém, conforme Silva (2009), a etapa pós colheita da

macaúba é pouco estudada e as tecnologias para processamento são adaptadas de outras oleaginosas, contribuindo para a baixa qualidade do óleo comercializado, necessitando desta forma, que sejam desenvolvidas e implementadas novas estratégias de processamento do fruto.

3.2.1 As Pesquisas com a Macaúba

As pesquisas com a macaúba tiveram seu início marcado na década de 80 com a implementação no Brasil do programa Pro-óleo, programa este que visava substituir o óleo diesel utilizado em larga escala por óleos vegetais, minimizando os impactos ambientais (AZEVEDO FILHO *et al.*, 2012).

Passado este período de euforia, o interesse pela macaúba estagnou e, por mais de 20 anos deixou de ter registros relevantes na pesquisa, voltando à tona em 2004 com o lançamento do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), que conforme Azevedo Filho *et al.* (2012) tinha por objetivo reduzir as disparidades socioeconômicas regionais do país por meio da inclusão social das famílias de agricultores no fornecimento de matérias primas para a produção de biodiesel, permitindo a criação de milhares de empregos e geração de renda.

Os principais entraves encontrados para a implantação de plantios comerciais dessa palmeira seriam a quebra de dormência da semente para produção de mudas e o lento crescimento inicial que, em condições naturais não atinge 3% no primeiro ano. No caso da quebra de dormência, já foram desenvolvidas técnicas de laboratório elevando o índice de germinação a 60%. Já o lento crescimento inicial, comum a quase todas as culturas perenes, pode ser contornado através da seleção de genótipos com características agrônômicas superiores e nutrição mineral balanceada (AZEVEDO FILHO *et al.*, 2012, CETEC, 1983).

Ainda de acordo com Azevedo Filho *et al.* (2012), em Minas Gerais, a Lei nº 19.485/2011 – Pró-Macaúba, regulamentada pelo governo local, incentivou o cultivo, à extração, à comercialização, ao consumo e à transformação da macaúba e demais palmeiras oleaginosas, como fonte produtora de energia renovável, atendendo as diretrizes de sustentabilidade ambiental, social e econômica definidas no Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB).

Desde janeiro de 2008, todo o óleo diesel comercializado no Brasil contém 2% de biodiesel, isto devido ao governo brasileiro estimular a produção e comercialização do combustível, sendo o marco principal a publicação do Decreto No. 5.488, em 20 de maio de 2005, regulamentando a lei 11.097 (janeiro/2005) que dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira. Inicialmente a proporção autorizada foi 2% do diesel comum sendo este percentual aumentado na proporção de 5% em volume, a partir de janeiro de 2010 (MACHADO *et al.*, 2010).

3.2.2 Usos do Fruto *in natura* e dos Resíduos do Processamento da Macaúba

No Brasil, a macaúba representa uma das principais fontes de óleo vegetal com potencial para produção de biodiesel, porém deste fruto pode-se aproveitar tudo. Do tronco pode-se obter madeira para produção de mourões e estacas. Do estipe pode-se retirar o palmito e a seiva utilizados, respectivamente, como alimento e bebida. As folhas podem servir como forragem animal, cobertura de casa e extração de fibras usadas no fabrico de linha de pesca e redes (LORENZI e NEGRELLE, 2006).

A polpa pode ser usada diretamente na alimentação ou pode ser empregada como farinha em receitas de cozinha. Do fruto podem ser extraídos dois tipos de óleo: da polpa e da amêndoa, podendo estes ser utilizados como matéria-prima na indústria de alimentos, fármacos, cosméticos e na indústria química, na produção de biodiesel. O farelo que sobra após a extração do óleo, assim como em outras oleaginosas, pode ser utilizado para ração animal, como combustível de queima em caldeiras, por possuir alto poder calorífico (4.706 Kcal/Kg), ou até como fertilizante por ser rico em potássio, sódio, cálcio e fósforo (SILVA *et al.*, 2008; ARISTONE e LEME, 2006). Conforme Silva *et al.* (2008), a torta da amêndoa, rica em proteína, é muito mais valorizada como ingrediente para compor a ração animal. É um concentrado rico em ômega 3 e ômega 6, indicado para alimentação de aves, destacando-se por aumentar a produção e tamanho dos ovos. O endocarpo pode ser transformado em carvão ativado.

O uso de resíduos do processamento da macaúba como possíveis fontes de alimentação animal, por exemplo, vem ao encontro da expectativa de que, o uso mais eficiente dos recursos naturais, pode contribuir substancialmente ao empenho

mundial para reduzir as emissões de gases do efeito estufa e diminuir o aquecimento global. A cada ano, cerca de um terço (aproximadamente 1,3 bilhões de toneladas) de todos os alimentos para consumo humano, são desperdiçados, juntamente com a energia, água e produtos químicos necessários para produzi-los, provocando estragos no solo e no meio ambiente (DESPERDÍCIO..., 2013).

No mesmo sentido de mau uso dos resíduos alimentares gerando prejuízos a qualidade de vida, tem-se também o fator econômico, onde se menciona que o desperdício com alimentos no mundo pode chegar a US\$ 750 bilhões anuais, estando esses valores distantes do ideal para se buscar o caminho da sustentabilidade (GIRALDI, 2013). Nesta mesma fonte consta que 54% dos resíduos dos alimentos no mundo ocorrem na fase inicial da produção, ou seja, na manipulação após a colheita e na armazenagem. Os 46% restantes de prejuízos ocorrem nas etapas de processamento, distribuição e consumo de alimentos.

A Tabela 1 descreve dados comparativos dos componentes do fruto da macaúba, obtidos a partir da prensagem para extração do óleo. Destaca-se, por exemplo, valores expressivos como a proteína elevada do farelo da amêndoa em comparação do farelo da polpa, o percentual de lignina do endocarpo e a expressiva quantidade de fibras de todos os contribuintes.

Tabela 1 – Análise química das tortas residuais do coco macaúba.

Contribuintes (%)	Casca	Polpa	Endocarpo	Amêndoa
Cinzas	2,8	6,5	1,1	5,1
Extrativos	5,5	3,0	7,3	5,5
Proteína	2,5	8,5	2,0	50,1
Fibra	55,8	37,3	42,5	34,1
Lignina	29,5	7,9	34,0	10,2
Açúcares	–	18,7	–	–

Fonte: CETEC, 1983

3.3 FARELOS UTILIZADOS COMO ALIMENTOS

Conforme Moraes (2007), a utilização de subprodutos tanto de indústrias alimentícias como da própria agricultura, além de ser uma ótima alternativa de minimizar custos no segmento agrícola é prioritariamente um fator de ordem ecológica, por criar um destino útil para esses resíduos.

De acordo com Costa (2010), o caroço de algodão, subproduto da agroindústria, possui evidências de alto poder nutritivo podendo se destacar como alternativa na elaboração de dietas para ruminantes, desde que se respeitem alguns limites pré-estabelecidos; podendo ser observado que a suplementação de grãos na dieta pode acentuar a produção de leite, isto porque a gordura presente pode aumentar a disponibilidade de glicose para as células produtoras de leite, sabendo-se que a glicose é precursora da síntese de lactose, determinante da quantidade de leite sintetizado pela glândula mamária.

Ainda de acordo com Costa (2010), a principal vantagem em utilizar o caroço de algodão é devido ao alto teor de energia (14 MJ/kg de matéria seca), que reflete o seu conteúdo de óleo, sendo também rico em proteína (24% de proteína bruta) e tendo capacidade de suprir fibra para a ração quando, por exemplo, é comparado à soja. Por analogia podemos creditar todas essas qualidades ao farelo de macaúba.

Uma grande vantagem do aproveitamento dos subprodutos e resíduos na alimentação de ruminantes é a redução do custo de produção animal. O uso deste tipo de alimentação também é interessante, pois a maioria dos resíduos industriais tem produção estacional, que geralmente coincide com o período de escassez de forragem. Utilizar subprodutos e resíduos agroindustriais na alimentação animal pode vir a melhorar a produtividade, no entanto, deve haver uma preocupação com o estudo nutricional do alimento, de forma que o mesmo venha a atender as exigências nutricionais do animal, contribuindo assim para o adequado consumo de nutrientes, objetivando o ganho de peso e a redução de custos do produtor (MENEZES de SA, 2011; GOES *et al.*, 2008).

Quando se fala em alimentos utilizados na nutrição animal, cujos potenciais são desconhecidos, é necessário preocupar-se com possíveis fatores tóxicos que podem estar presentes no mesmo (SOUZA FILHO, 1995).

A produção de farelos a partir de frutos de mamona e pinhão manso, por exemplo, conforme cita Ramos (2010), possui limitações devido à presença de substâncias tóxicas, necessitando passar por um processo de detoxificação, o que encarece o processo e pode inviabilizar sua utilização como alimento. Outro exemplo que pode ser citado é o processo de extração de óleo de soja, no qual o farelo precisa ser bem tostado durante o tratamento térmico para inativar os fatores antinutricionais da soja, favorecendo a digestibilidade dos nutrientes, porém, o superaquecimento pode conduzir a desnaturação das proteínas presentes no produto e a redução da energia metabolizável, sendo fundamental o acompanhamento deste processamento para a obtenção de um farelo de soja de qualidade.

No caso da macaúba, as tortas obtidas da polpa e da amêndoa, não possuem substâncias tóxicas e ainda contribuem com um elevado valor energético, podendo também ser utilizada para consumo humano (RAMOS, 2010).

Conforme dados que aporta Barreto (2008) com análises químicas preliminares de tortas residuais de macaúba, realizadas no Laboratório de Bromatologia do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais – ICA/UFMG, ficou demonstrado que esse resíduo pode ser teoricamente aproveitado na alimentação de ruminantes, apresentando alto teor de fibras e energia, porém, ainda é necessário realizar mais estudos sobre a microbiota ruminal, devido ao alto nível de extrato etéreo presente nas amostras pode comprometer o sistema de fermentação na digestão dos ruminantes e, conseqüentemente, o desenvolvimento dos animais.

Uma pesquisa conduzida por Rufino *et al.* (2011) avaliou os efeitos de diferentes níveis de inclusão da torta de macaúba sobre a população de protozoários ruminais de caprinos concluindo que esse subproduto pode ser uma alternativa segura para esses microrganismos ruminais.

Sobreira (2011) em seu trabalho testou a inclusão de percentuais de casca e coco (sem endocarpo, ou seja, a polpa) de macaúba adicionada ao concentrado à base de silagem de milho, fornecido para vacas lactantes, concluindo que tanto a casca do coco, bem como o coco de macaúba triturados podem ser utilizados dentro de um limite diário, sem afetar o desempenho dos animais. Porém enfatiza que, mesmo após extração ou prensagem do fruto o elevado teor de lipídeos ainda se faz presente,

devendo então ser optado pela utilização em baixas quantidades para não alterar a dieta dos ruminantes.

Da mesma forma, Abdalla *et al.* (2008), enfatiza que a maioria das tortas ou farelos oriundos de oleaginosas utilizadas para produção de biodiesel são passíveis de serem utilizadas na alimentação animal, desde que, observando-se os fatores tóxicos ou antinutricionais que cada uma pode conter e, as quantidades a serem introduzidas na formulação das rações, bem como a particularidade no que diz respeito ao armazenamento adequado de cada suplemento. O autor ainda menciona que o emprego dessas tortas na alimentação de ruminantes visa aumentar a produtividade, sendo como um elo entre a produção de biodiesel e a pecuária, e interferem na redução da emissão de gases do efeito estufa pelos animais, vindo ao encontro aos interesses da iniciativa privada.

Neste aspecto, estudos realizados no Canadá, avaliaram a relação entre o nível de gordura adicionada à dieta de ruminantes e a redução das emissões de metano, constatando que para cada 1% de incremento de gordura à dieta foram reduzidos cerca de 6% das emissões de metano produzido por quilograma de matéria seca consumida, enfatizando que, um dos fatores mais importantes na redução das emissões de metano é devido a adição de uma variedade de fontes de gordura ao alimento (GRAINGER, 2008).

Grainger (2008) estabelece que um adicional de 2% de gordura na dieta de ruminantes, através da utilização de tortas ou farelos de oleaginosas, levaria a uma redução de 12% das emissões de metano, comprovando que realmente interfere na microbiota ruminal. Em termos econômicos representaria uma redução de aproximadamente 30,5 milhões de dólares para a indústria leiteira, em negociações de emissões de crédito de carbono.

Com um adicional de 3,3% de gordura incrementada na ração animal, observou-se um considerável aumento de 16% na produção de sólidos no leite e, uma redução de 21% nas emissões de metano por kg de matéria seca láctea (GRAINGER, 2008).

As práticas de uma alimentação adequada, no caso de vacas em lactação, influenciam na composição do leite, em maiores ou menores conteúdos de gordura, proteína, lactose e/ou sólidos totais e, conforme Signoretti (2011):

A adequada nutrição da vaca leiteira afeta significativamente a produção e a proporção dos componentes do leite, sendo que através da dieta a glândula mamária é suprida com os componentes nutricionais do sangue para síntese do produto. Estratégias de alimentação que otimizam a função do rúmen resultam em maior produção de leite e dos seus componentes. O conteúdo mínimo de fibra nas rações de vacas no início de lactação devem ser 18% a 20% de fibra em detergente ácido (FDA), e de 27% a 30% de fibra em detergente neutro (FDN). Cerca de 75% do FDN deve ser proveniente da forragem. Esse procedimento assume tamanho de partícula da forragem adequado para garantir 9 a 11 horas de mastigação e ruminação.

3.3.1 Qualidade da Alimentação Animal

A qualidade de qualquer matéria-prima ou ingrediente adicionado na formulação de rações para utilização na alimentação animal é bastante relevante, pois envolve aspectos nutricionais e de inocuidade que vão garantir a saúde do animal, o seu desempenho e a produção de leite e derivados quando for o caso.

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, através da Instrução Normativa n. 04, de 23 de fevereiro de 2007, aprova o regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos fabricantes de produtos destinados à alimentação animal, visando garantir a procedência destes produtos e atender a demanda mundial. Já os padrões mínimos dos diversos tipos de farelo que possam ser processados obedecem às especificações, também do MAPA, de 09 de novembro de 1988, Portaria nº 07. O farelo para exportação segue a ANEC 71 (Associação Nacional dos Exportadores de Cereais). O farelo de macaúba não é contemplado em nenhuma dessas especificações pré-definidas pelo órgão governamental.

Conforme Gonçalves *et al.* (2009), o conceito de qualidade de ingredientes é abrangente e, revela a disponibilidade dos nutrientes no alimento e o risco de contaminação por microrganismos patogênicos ou, por substâncias tóxicas, para os animais e para os humanos consumidores dos produtos derivados. Para isso são

adotadas diversas medidas que devem atender aos padrões mínimos que permitem explorar o desempenho animal e preservar a saúde humana.

De acordo com Salman *et al.* (2010) e Souza Filho (1995), os estudos para avaliação de subprodutos das agroindústrias e resíduos ligninocelulósicos para serem utilizados na alimentação de ruminantes, como fontes alternativas, é de suma importância, afinal, o sistema digestivo dos mesmos, composto por cavidades pré-gástricas permite que microrganismos simbióticos façam o aproveitamento de nutrientes contidos em alimentos fibrosos e grosseiros através do processo fermentativo, sendo considerados animais de grande eficiência digestiva e de obtenção de energia e que vai resultar em produtos como carne, leite, couro e lã.

Os alimentos podem ser classificados, de acordo com as análises químico-bromatológicas em volumosos e concentrados, sendo os volumosos aqueles que apresentam baixo teor energético, ou seja, os que possuem teor de fibra bruta superior a 18% na matéria seca e, os concentrados aqueles que possuem alto teor energético, ou seja, aqueles cujo teor de fibra bruta é inferior a 18% na matéria seca, podendo ainda serem chamados de concentrado proteico, aqueles que apresentam mais de 20% de proteína bruta na matéria seca ou, energéticos quando possuem quantidade inferior a 20% de proteína bruta na matéria seca (SALMAN *et al.*, 2010; GONÇALVES *et al.*, 2009).

A contribuição dos minerais na composição de rações também é importante por estes serem compostos inorgânicos que desencadeiam distintas funções no metabolismo, sendo considerados nutrientes que não são produzidos pelo organismo do animal sendo, portanto, necessário serem disponibilizados através da alimentação. De acordo com Gonçalves *et al.* (2009), os minerais são fontes de macronutrientes como cálcio (Ca), fósforo (P), potássio (K), cloro (Cl), sódio (Na) e magnésio (Mg), que podem ser expressos em percentagem ou mg/g, e de micronutrientes, como cobalto (Co), cobre (Cu), ferro (Fe), iodo (I) selênio (Se), zinco (Zn) e manganês (Mn) que são expressos em parte por milhão (ppm) ou miligrama por quilograma (mg/kg).

Os níveis mais deficientes de elementos minerais em pastagens e tecido animal de ruminantes, que não podem deixar de constituir a alimentação animal, são o fósforo, o cobre e o cobalto. Já a deficiência de ferro em pastagens é muito rara,

sendo necessário uma suplementação somente durante a época seca, sendo nesta, além da suplementação mineral necessário incremento em proteína e energia (LEITE, 2005).

O fornecimento de suplementos minerais é um fator que depende muito da qualidade das pastagens e forragens, sendo levado em consideração nos cálculos das dietas em todas as fases do ciclo produtivo dos animais (LEITE, 2005).

3.3.2 Avaliação dos padrões de Qualidade da Alimentação Animal

A análise bromatológica dos alimentos constituintes das rações é de suma importância, pois permitirá o balanceamento adequado da dieta, levando em conta o menor custo possível e a melhor qualidade do alimento. Conhecendo-se a composição química, quantificando e qualificando o valor nutritivo do ingrediente pode-se garantir a formulação de dietas mais adequadas e econômicas, que permita o melhor desempenho do animal, bem como a saúde do mesmo e eficiência em seu metabolismo, representando em ganhos na produção de leite e derivados, por exemplo, sem representar riscos à saúde humana.

A formulação de dietas de acordo com os requerimentos nutricionais das variadas categorias de animais e, a disponibilidade dos nutrientes presentes nos alimentos utilizados, é de suma importância quando se tem como propósito diminuir excreções desnecessárias de nutrientes ou gases no meio ambiente, o que pode contribuir para elevar impactos ambientais e prejuízos para o produtor, já que a utilização de alimentos além do necessário reverte em gasto inútil com rações, sendo o excesso não utilizado pelo animal e sim desviado para a rota de excreção (SALMAN *et al.*, 2010).

Na zootecnia, em nutrição animal, é difícil estabelecer um denominador comum em relação ao valor nutritivo dos alimentos, tendo em vista que uma forrageira, rica em proteína, por exemplo, pode ser pobre em vitaminas e minerais. Nesse sentido pode-se citar a farinha de osso que é excelente em nutrientes minerais, porém praticamente seu valor nutricional se limita somente a esse parâmetro. Já o farelo de soja tem importante função como suplemento proteico, enfatizando assim, que tanto a farinha de osso como o farelo de soja são importantes e necessários devido as

diferentes exigências nutritivas dos animais (Peixoto, 1993 apud Rodrigues, 2010). A principal condição da composição da dieta é conter um valor energético suficiente para o desenvolvimento e manutenção das funções vitais do animal.

- **Análise de Matéria Seca (MS)**

Esta análise baseia-se na perda de água e outros materiais voláteis, realizada em estufa, até que apresente peso constante sendo, portanto, MS a fração do alimento excluída a parcela de água. A importância se deve tanto no aspecto de conservação de alimentos como no de comparação do valor nutritivo dos mesmos, pois todos os alimentos contêm maior ou menor proporção de água em sua composição e é na MS que estão contidos os nutrientes como proteína, vitaminas, minerais e outros.

Conforme Salman *et al.* (2010), a MS é um parâmetro muito importante, principalmente quando obtido de alimentos volumosos, os quais podem apresentar umidade variável, assim, por exemplo, uma amostra de milho em grão que tenha 15% de umidade natural apresenta, por diferença, 85% de MS, sendo que o teor de umidade entre alimentos pode ser muito variável, de 75% para gramíneas frescas, por exemplo, até 10% para farelos e feno.

Os resultados das análises químicas são, preferencialmente, apresentados com base na MS possibilitando que diferentes alimentos ou, alimentos de distintas regiões, sejam comparados não levando em consideração a fração de água presente.

- **Análise de Óleo, Gordura ou Extrato Etéreo (EE)**

O termo lipídeo é utilizado para gorduras e substâncias gordurosas, sendo um composto orgânico altamente energético, constituído por ácidos graxos essenciais ao organismo, que atuam como transportadores de vitaminas lipossolúveis. Os lipídeos são substâncias insolúveis em água, mas solúveis em solventes orgânicos, chamados extratores, tais como éter de petróleo, clorofórmio, benzeno, dentre outros. Além das gorduras arrastadas na presença desses solventes, existem muitos outros compostos intimamente associados que também acabam sendo extraídos na análise, como por exemplo, fosfatídeos, esteróis, clorofila, resina, etc (INSTITUTO ADOLFO LUTZ).

O método de extração de gordura se baseia em três etapas: a extração da gordura com solvente a quente (solvente usado no processo é aquecido até tornar-se volátil e, ao condensar-se, circula sobre a amostra, arrastando toda a fração gordurosa e demais substâncias solúveis no solvente elegido); eliminação do solvente por evaporação e quantificação da gordura extraída por pesagem.

Barbosa (2010) descreve que, em relação à nutrição animal, um produto com elevado teor de extrato etéreo além de prejudicar sua estocagem por possibilidade de rancificação, também limita sua utilização, haja vista o limite de inclusão em dietas de ruminantes ser de 5% de gordura.

É necessário avaliar uma alta inclusão de gordura através de grandes quantidades na ração, pois o elevado teor de lipídeos, mesmo após a extração e/ou prensagem pode continuar presente no resíduo, porém utilizando-se de baixas quantidades pouco altera a dieta dos animais (SOBREIRA, 2011). Neste mesmo trabalho, Sobreira (2011) descreve valores de 2,7% e 21,5% com base na massa seca de extrato etéreo para o epicarpo e polpa de macaúba respectivamente, bem como 66,3% e 44,8% para FDN e 42,3% e 21,4% para FDA, também para epicarpo e polpa respectivamente, valores esses citados para o epicarpo similares quando comparados aos da Tabela 5.

Conforme Signoretti (2011), a adição de gordura na alimentação deve ser um ponto de atenção, pois esse procedimento pode levar a diminuição dos teores de proteína do leite. Em contrapartida, pode-se obter um aumento considerável na produção de leite e decrescer o balanço negativo de energia sendo que, no geral, em termos econômicos, essas respostas, na produção do leite e condição corporal do animal, são mais relevantes do que o potencial decréscimo no conteúdo de proteína do leite. Um aumento superior a 8% de gordura adicionada ao alimento pode representar um decréscimo de até 0,2 unidades para o percentual de proteína do leite.

- Análise de Fibra Bruta (FB)

O termo fibra bruta engloba a fração da celulose e da lignina presentes na amostra sendo que esses constituintes totalizam aproximadamente 97% do total da FB, sendo a maior fração a de celulose. Segundo Silva e Queiroz (2002), a forma mais correta de se avaliar cada um desses constituintes é através da determinação

direta de cada uma dessas frações, pois parte delas é dissolvida nas digestões ácida e básica, durante a análise, sendo denominada a FB, do ponto de vista químico, a parte dos carboidratos resistente ao tratamento sucessivo com ácido e base diluídos, não quantificando verdadeiramente a fibra do alimento.

Desta forma pode-se enfatizar que o termo FB não reflete de maneira exata a hemicelulose, a lignina e a celulose presente na parede celular das plantas, pois o tratamento com ácido remove amido, açúcares, parte da pectina e hemicelulose, enquanto que a extração com base forte contribui para que boa parte de proteína, pectina, hemicelulose remanescente e parte da lignina sejam destruídas por esse reagente.

Quanto maior a quantidade de fibra presente no alimento, menor será o teor de energia, sendo o conteúdo de fibra aquele que determina o consumo voluntário do animal (RODRIGUES, 2010). Ainda de acordo com Rodrigues (2010), a quantidade de fibra tem como atribuição dar consistência ao bolo alimentar, regulando a velocidade de passagem pelo trato digestivo, onde uma grande quantidade de fibra ocasionará passagem lenta e conseqüentemente baixa digestão e absorção de nutrientes. Ao contrário, se o alimento possuir pouca fibra, a passagem pelo trato digestivo é muito rápida, podendo provocar fermentações indesejáveis, sendo qualquer uma das hipóteses capaz de influenciar no metabolismo do animal.

- **Análise de Proteína Bruta (PB)**

Os produtores de ração dão especial destaque ao teor de proteína contido no farelo, pois a partir deste parâmetro é calculada a quantidade de aminoácidos que deverá ser adicionada para não comprometer o crescimento animal. Para sua utilização comercial, o valor do farelo é determinado pelo teor de proteína.

Assim como os lipídios, as vitaminas e os minerais, o conteúdo em proteína bruta do alimento representa os nutrientes constituintes do alimento sendo a proteína, o principal componente do organismo do animal, indispensável para o crescimento, reprodução e produção (carne, ovos, leite) em geral (RODRIGUES, 2010).

As proteínas têm percentual de nitrogênio quase constante, em torno de 16%, então, determina-se o nitrogênio presente e por meio de um fator de conversão, transforma-se o resultado para proteína bruta (SILVA e QUEIROZ, 2002).

Existem diversos métodos de determinação do teor proteico, sendo o método de Kjeldahl o mais usado. O referido método é dividido em três etapas: digestão, destilação e titulação (DETMANN *et al.*, 2012).

- Análise de Cinzas ou Matéria Mineral (MM)

A cinza de um alimento é constituída pelo resíduo inorgânico que permanece após a queima da matéria orgânica, que é transformada em CO₂, NO₂ e H₂O, porém, nem sempre este resíduo representa toda a substância inorgânica presente na amostra, pois alguns sais podem sofrer redução ou volatilização nesse aquecimento a 600°C em mufla (SALMAN *et al.*, 2010).

Sua determinação é um parâmetro importante para verificação do valor nutricional da ração em termos de elementos minerais, porém um alto índice de cinzas pode indicar também a presença de adulterantes.

Os principais cátions presentes na cinza são os de cálcio, potássio, sódio, magnésio, ferro, cobre, cobalto e alumínio. Já os ânions mais encontrados são o sulfato, cloreto, silicato, fosfato, dentre outros (SILVA e QUEIROZ, 2002).

- Análise de Fibra em Detergente Neutro - FDN

A célula vegetal é basicamente formada por celulose, um revestimento da parede celular rígida. Porém em células adultas esta mesma parede sofre um espessamento que pode formar uma segunda parede composta por lignina e hemicelulose. Por meio do detergente neutro é possível separar o conteúdo celular, formado por proteínas, gorduras, carboidratos solúveis, pectina e outros constituintes solúveis em água, da parede celular que não se solubiliza no detergente e é constituída basicamente de celulose, hemicelulose, lignina, proteína da parede celular e minerais (SILVA e QUEIROZ, 2002; SALMAN *et al.*, 2010).

A fibra em detergente neutro mensura todos os componentes de volume – celulose, hemicelulose e lignina, sendo importante para se estimar o consumo voluntário, pois quanto maior o valor de FDN, mais baixo será o consumo esperado de matéria seca (RODRIGUES, 2010). Ainda de acordo com Rodrigues (2010), os níveis de FDN variam com a espécie vegetal e seu estado vegetativo, sendo normalmente mais baixo nas leguminosas do que para as gramíneas.

Para a silagem de milho, conforme Rodrigues (2010), os níveis de FDN costumam variar bastante, porém um bom nível é ao redor de 50%, sendo estabelecido em base a pesquisas, que o consumo total de FDN nas vacas em lactação deve ficar em torno de 1,2% do seu peso vivo, sendo que 70% devem ser oriundos dos volumosos (silagem, pastagem, feno) e 30% das rações.

A fração FDN tem sido relacionada com outros aspectos da nutrição, englobando o consumo, a densidade do alimento, a atividade mastigatória deste processo de alimentação, a digestibilidade da dieta e a consequente taxa de digestão, sendo, portanto, incoerente formular uma ração baseada em exigências nutricionais levando-se em conta somente a fração FDN (MERTENS, 1997).

Uma dieta rica em fibra resulta em um aumento marginal no percentual de gordura do leite e decresce de 0,1 a 0,4 unidades no percentual de proteína do leite. Já uma dieta baixa em fibra (com FDN – Fibra em Detergente Neutro menor que 26%) decresce 1,0% ou mais no percentual de gordura e aumenta 0,2 a 0,3 unidades no percentual de proteína do leite. O mesmo acontece no caso de forragens com partículas pequenas (o ideal são partículas com tamanho superior a 5,0 cm) e para alimentos com baixo nível de forragem, onde se percebe diminuição da gordura e aumento da proteína do leite. Porém esta não é uma forma adequada para se aumentar os teores de sólidos não gordurosos do leite, pois o animal que recebe este tipo de alimentação não estará saudável, podendo apresentar quadros de acidose e laminite, ambas doenças metabólicas e, ainda, variações no consumo de alimento (SIGNORETTI, 2011).

- **Análise de Fibra em Detergente Ácido - FDA**

A fibra em detergente ácido reporta a quantidade de fibra que não é digestível por conter alta fração de lignina, indicando o valor energético da alimentação, sendo que, quanto menor a FDA, maior o valor energético e maior a digestibilidade por parte do animal (RODRIGUES, 2010).

A solução detergente ácida é usada para dissolver o conteúdo celular, hemicelulose e minerais solúveis, fração esta denominada de solúveis em detergente ácido, deixando um resíduo fibroso formado por celulose, lignina, proteína da parede celular e minerais, chamado de FDA, sendo a porção solúvel integralmente aproveitada por ruminantes ou outros herbívoros e parcialmente por monogástricos não herbívoros. Já a FDA, por ser constituída quase que na sua totalidade por lignina e celulose, é a porção menos digestível da parede celular das forrageiras pelos microrganismos do rúmen (SILVA e QUEIROZ, 2002; SALMAN *et al.*, 2010).

Por não conter hemicelulose esta análise não é uma boa estimativa da fibra como é definida nutricionalmente, não contemplando todos os polissacarídeos parcialmente digeríveis do alimento. Esse método foi desenvolvido como passo preparatório para determinação de lignina (VAN SOEST, 1967 apud MACEDO JUNIOR *et al.*, 2007).

De acordo com Rodrigues (2010), a fibra em detergente ácido, por conter a maior proporção de lignina indica quão indigestível é o alimento sendo, 21% da matéria seca da dieta, o nível máximo permitido para ruminantes.

- **Análise de Lignina**

De acordo com Van Soest (1968), a grande maioria dos vegetais superiores contém alguma fração de lignina, podendo variar de 4 a 12%, podendo chegar a 20% da matéria seca em forrageiras mais fibrosas, sendo este o parâmetro mais conhecido por limitar a digestão dos polissacarídeos fibrosos no rúmen.

A lignina é determinada pelo método sequencial a partir da fibra em detergente ácido, podendo ser lignina “Klason”, utilizando ácido sulfúrico ou lignina “permanganato” que utiliza o permanganato de potássio para ser solubilizada, completando-se assim o fracionamento dos constituintes da parede celular.

As ligninas são polímeros complexos de estrutura não totalmente conhecida e sua estrutura, composição e quantidade, podem variar de acordo com o tecido, os órgãos, a origem botânica, a idade da planta e até por fatores ambientais (MACEDO JUNIOR *et al.*, 2007).

- **Análise de Celulose**

A celulose é o polissacarídeo mais abundante na natureza e, com exceção de algumas sementes, é o principal constituinte da maioria das paredes celulares vegetais (McDOUGALL *et al.*, 1993), seu teor varia de 20 a 40% na base seca das plantas superiores, podendo esta variação ser maior se comparada a diferentes partes da planta ou subproduto vegetal (VAN SOEST, 1994).

Conforme Rodrigues (2010) os ruminantes desdobram a celulose, por meio de sua microbiota bacteriana, convertendo em ácidos graxos voláteis (AGV) principalmente, ácido acético, ácido propiônico e ácido butílico.

- **Análise de Digestibilidade *in vitro* da Matéria Seca - DIVMS**

A técnica consiste em dois estágios. Primeiramente se deixa a amostra do alimento por 48 h em fermentação pré-gástrica, em contato com o conteúdo do líquido ruminal, no qual se visa reproduzir as condições *in vivo* (presença de microrganismos, anaerobiose, temperatura média de 39°C e poder tampão com pH de 6,9). Já num segundo estágio, processa-se a digestão pela adição de uma solução ácida de pepsina, por mais 24 h, a fim de digerir as proteínas. A diferença da quantidade de matéria seca ou orgânica inicial e final, após os dois estágios, é considerada como tendo sido digerida, sendo o termo digestibilidade, definido por Rodrigues (2010) como sendo: “a relação entre a quantidade de alimento que o animal ingere e a que digere, sendo esta última àquela parcela que é efetivamente assimilada, que entra no metabolismo propriamente dito do organismo animal”.

3.4 BIODEGRADAÇÃO POR BASIDIOMICETOS RESULTANDO NO ENRIQUECIMENTO DO FARELO

A partir da produção, transformação e consumo de produtos agrícolas, há uma grande variedade de remanescentes, que criam problemas cada vez maiores de eliminação e, dentre os vários destinos possíveis, podem ser citados como os mais utilizados: transporte e incorporação ao solo (tem-se que considerar a relação entre os teores de carbono e nitrogênio, pois a velocidade de decomposição depende dela), queima (pior alternativa, pois ocorre o empobrecimento do solo e aumenta a emissão de CO₂ na atmosfera) ou utilização como ração para os animais (boa alternativa, embora em alguns casos, a quantidade produzida de resíduos seja elevada, aumentando a dificuldade de reciclagem de todo o volume gerado) (SILVA, 2003).

Porém, ainda de acordo com Silva (2003), uma boa alternativa para a reciclagem dos resíduos da colheita, é a biodegradação por microrganismos, que é uma alternativa de desenvolvimento sustentável, uma das atividades da biotecnologia. Os materiais celulósicos, como os resíduos agrícolas, podem ser degradados por microrganismos, para assim, obter um novo composto, como por exemplo, a glicose, que pode ser utilizada na alimentação humana.

Conforme cita Alborés *et al.* (2006), no Uruguai, a grande maioria das indústrias que processam produtos agrícolas descartam os restos sem tratamento, implicando em uma enorme agressão ao meio ambiente. Como exemplo, o processamento de plantas cítricas produz 50 mil toneladas por ano de bagaço que representa 40-50% em peso de fruta fresca. A composição é relativamente suficiente para a alimentação de ruminantes, mas há problemas de palatabilidade e possíveis contaminações com a casca, podendo haver produção de micotoxinas. Com relação à palha de arroz é obtido a uma taxa de 2000 kg por hectare colhida (310.000 toneladas de palha por ano), e embora seja usado na alimentação de ruminantes, apresenta baixo conteúdo de proteína e baixa digestibilidade.

Nestes casos, os resíduos de processos que apresentam baixo teor de proteínas, vitaminas e sais minerais, quando cultivados com fungos adequados, podem aumentar seu valor nutricional, sendo acrescido de proteínas microbianas, sais como

fosfato, potássio e cálcio, além de vitaminas do complexo B, importantes fatores de crescimento para animais (VILLAS-BÔAS e ESPOSITO, 2000).

Em um trabalho de Villas-Bôas e Esposito (2000), intitulado: Bioconversão do bagaço de maçã: enriquecimento nutricional utilizando fungos para produção de um alimento alternativo de alto valor agregado é descrito o seguinte trecho:

A maioria dos subprodutos vegetais, rejeitos das indústrias de alimentos, são pobres em nutrientes como proteínas e vitaminas e muitas vezes ricos em fibras não digeríveis. Uma alternativa para aumentar o valor agregado desses resíduos seria a sua bioconversão utilizando microrganismos, principalmente fungos. Esses organismos são fontes atrativas de alimento, porque podem ser cultivados em despejos ou subprodutos industriais, com produção de grande quantidade de células ricas em proteínas, denominadas SCP (do inglês: single cellprotein). Os produtos enriquecidos com este tipo de proteína podem ser usados como suplemento protéico na alimentação humana, ou como ingredientes alimentícios que funcionam como aromatizantes, dispersantes e até mesmo como ração animal. Os microrganismos crescem muito rapidamente e são produzidos em grande quantidade.

Outros autores têm mostrado que alguns fungos, especialmente algumas espécies de *Pleurotus* são capazes de colonizar diferentes tipos de resíduos vegetais, aumentando a sua digestibilidade (RAJARATHNAM e BANO, 1987; VILLAS-BÔAS, ESPOSITO e MENDONÇA, 2003). *Pleurotus*, definido por Rajarathnam e Bano (1987) “é um cogumelo comestível com grande interesse biotecnológico devido à sua habilidade em degradar inúmeros resíduos agrícolas e sua alta qualidade organoléptica”. E, além disso, é um alimento considerado saudável, que não possui muitas calorias e gorduras, apresenta elevado conteúdo proteico, rico em vitaminas, fibras dietéticas e algumas espécies apresentam compostos biologicamente ativos que conferem propriedades medicinais e terapêuticas (BREENE, 1990).

Embora o cogumelo botão (*Agaricus bisporus*) responde por pouco mais da metade da produção mundial de cogumelos, cogumelos especiais, por exemplo, *shiitake* (*Lentinula edodes*), palha (*Volvariella volvacea*), ostra (*Pleurotus* spp.), e *Enokitake* (*Flammulina velutipes*), estão crescendo em popularidade. Estas espécies contêm quantidades moderadas de proteína de boa qualidade e são boas fontes de fibras alimentares, vitamina C, vitaminas do complexo B e minerais. Muitas das substâncias ativas que incluem polissacarídeos, derivados de ácidos nucleicos,

lipídeos, peptídeos, proteínas e glicoproteínas, têm sido isoladas e identificadas (BREENE, 1990).

Dentre alguns benefícios mencionados da cultura de basidiomicetos (cogumelos), está a melhoria na qualidade nutricional e digestibilidade na alimentação animal de substratos degradados por cogumelos, pois após o cultivo dos mesmos, o substrato residual ainda é muito valioso (SÁNCHEZ, 2004; VILLAS-BÔAS, ESPOSITO e MENDONÇA, 2003).

O cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* é o terceiro mais importante cultivado em todo o mundo. Ele pode decompor de forma eficiente ligninocelulose sem pré-tratamento químico ou biológico porque possui um complexo sistema enzimático que inclui fenol oxidases e peroxidases. Portanto, uma grande variedade de resíduos ligninocelulósicos podem ser utilizados e reciclados por fermentação em estado sólido (FES) com este cogumelo. Em seu trabalho em específico, Sánchez *et al.* (2002) mostrou que a reciclagem de resíduos através da viticultura FES por *Pleurotus* tem um grande potencial para a produção de alimentação humana e um rendimento de alimentação de alta fibra disponível para uso limitado em ruminantes.

Conforme Paz *et al.* (2013), o fungo *Pleurotus sajor-caju* é um cogumelo de origem asiática que, além de ser conhecido por apresentar propriedades terapêuticas, podendo ser utilizados para o desenvolvimento de drogas antitumorais, possui sabor suave e é rico em vitaminas e aminoácidos. O poder que possuem de biossorção pode enriquecê-los com nutrientes do substrato como, por exemplo, compostos fenólicos (PAZ *et al.*, 2012).

CAPÍTULO 4 – MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada utilizando-se o resíduo da extração do óleo de macaúba, que compreende os farelos da polpa e da amêndoa, além do epicarpo.

As amostras *in natura* foram obtidas como resíduos do processo de extração do óleo da macaúba, onde foi feita a trituração da polpa e da amêndoa do fruto, seguido de tratamento com hexano. Os resíduos obtidos desse processo foram armazenados em freezer (-5°C) após evaporação do solvente a temperatura ambiente, sendo este material aqui denominado de “farelos”.

Conforme sumarizado na Figura 3, os farelos da polpa e da amêndoa passaram pelos mesmos procedimentos e análises, sendo avaliadas em ambos os casos, as amostras *in natura* e tostadas em estufa a 70°C por 24 h, com intuito de se remover os traços de solvente que ainda pudessem estar presente nas amostras.

Posteriormente realizou-se a miceliação das amostras com fungos visando melhorar as propriedades nutritivas desses resíduos.

O epicarpo, também armazenado em freezer (-5°C) após sua remoção do fruto, foi moído previamente para as análises de caracterização. No processo de bioconversão o mesmo foi usado conforme retirado do fruto, ou seja, em pedaços, Figura 4.

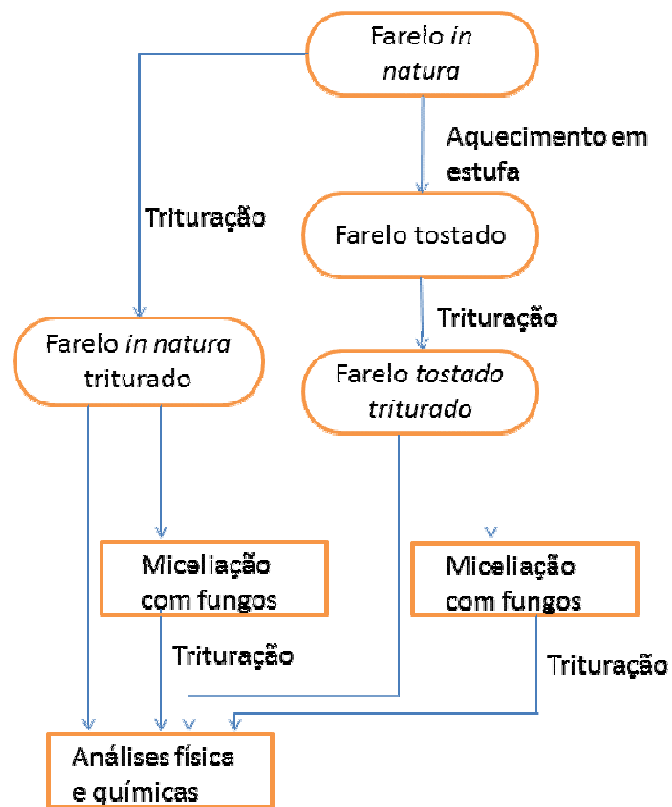


Figura 3- Planejamento dos procedimentos para avaliação do farelo da polpa e da amêndoa, separadamente.

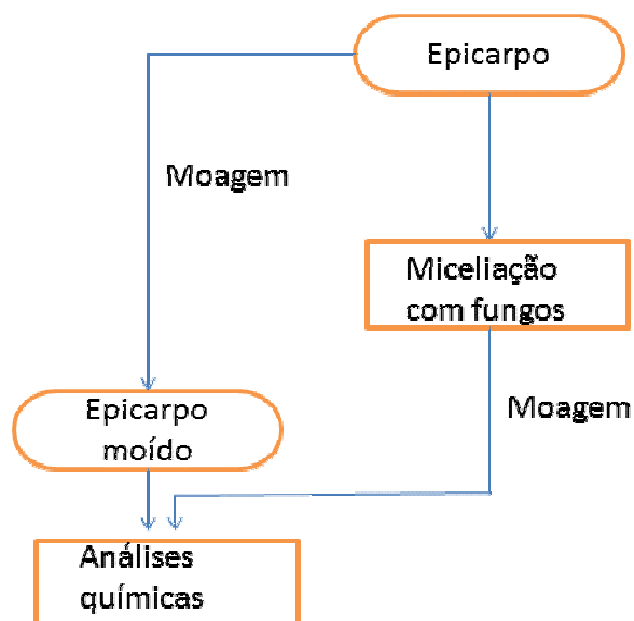


Figura 4 - Planejamento dos procedimentos para avaliação do epicarpo.

4.1 BIOCONVERSÃO E ENRIQUECIMENTO POR MICRORGANISMOS

Nesta etapa foi realizada a miceliação com fungos comestíveis para a bioconversão e enriquecimento proteico das amostras testadas.

Os microrganismos utilizados, que serviram de cultura inicial ou cultura mãe ou ainda inóculo, foram da espécie *Pleurotus sajor-caju* linhagem / lote 51/05 e *Pleurotus ostreatus* linhagem / lote EF 764 B, adquiridos na forma de *spawn* da empresa Funghi e Flora, localizada em Valinhos, São Paulo. Este laboratório produz sementes, através de técnicas estéreis utilizando grãos de cereais que são colonizados pelo fungo servindo então como inoculante.

A Metodologia seguida foi a citada por Breyer, Paz e Giovanni (2007), Paz *et al.* (2013) e Obodai, Cleland-Okine e Vowotor (2003).

Na Figura 5 são mostrados os diferentes tipos de farelos: *in natura* e tostado das amostras de amêndoa e polpa e, o epicarpo, na mesma forma em que foram inoculados com os fungos.

4.1.1 Preparo das Amostras

Utilizando-se sacos transparentes de polipropileno (resistentes a autoclavagem), com medidas de 20x30 cm foram pesadas quantidades iguais das amostras que serviram como substrato (32 g) e a cada uma foi adicionado água de forma que a umidade não fosse inferior a 65%. Os sacos foram fechados com tampões de algodão, para permitir as trocas gasosas durante o processo, e levados para esterilização em autoclave a 121°C durante 20 min. Após esse tempo, as amostras foram deixadas na própria autoclave para arrefecerem, prosseguindo a inoculação no dia seguinte (Figura 6).

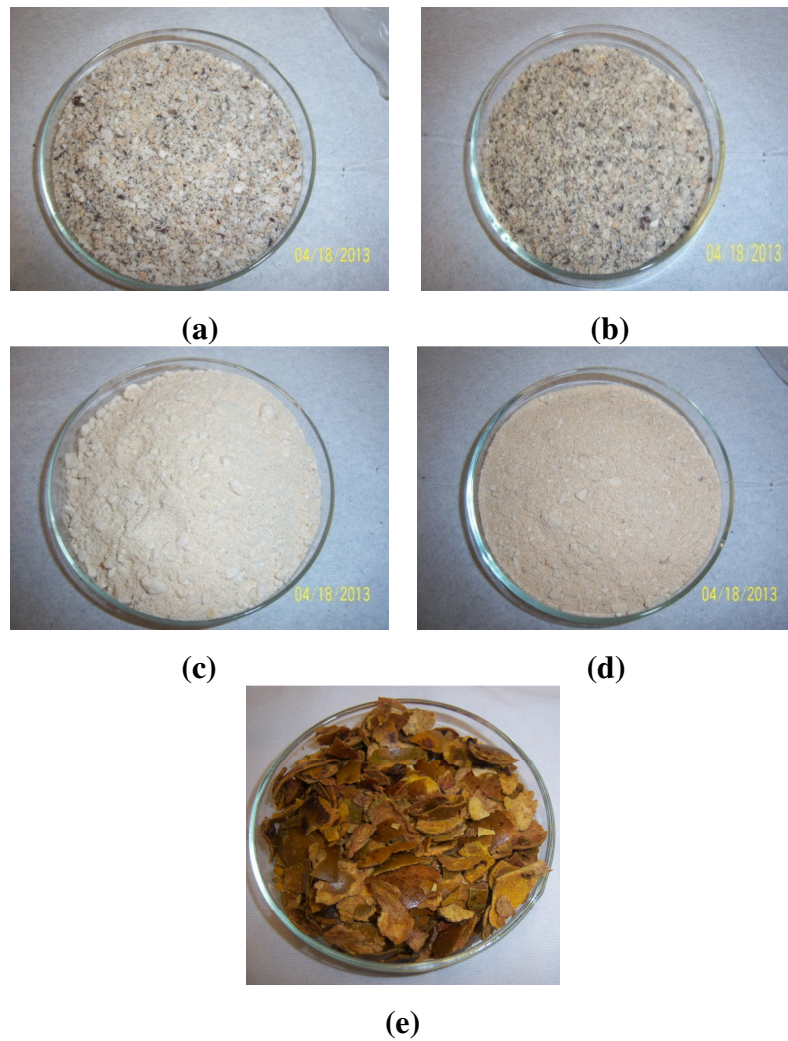


Figura 5 - Farelo da amêndoa: (a) *in natura* e (b) tostado; farelo da polpa: (c) *in natura* e (d) tostado e, (e) epicarpo, da mesma forma em que foram inoculadas com os fungos.

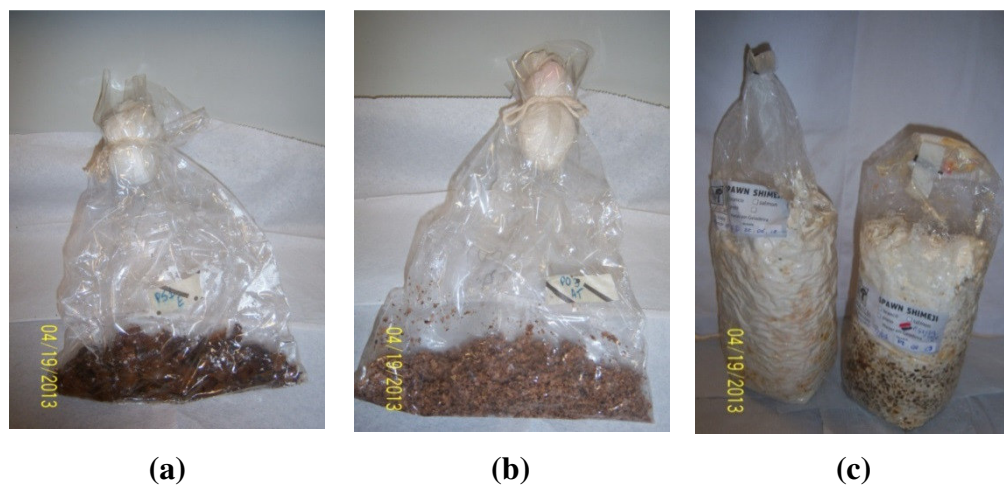


Figura 6 - Amostras de resíduos da extração de óleo da macaúba: (a) epicarpo e (b) farelo de amêndoa, após remoção da autoclave; e c) *spawn* do *Pleurotus sajor-caju* (PS) e *Pleurotus ostreatus* (PO), da forma como foram adquiridos pelo laboratório produtor de sementes.

4.1.2 Inoculação e Crescimento Micelial

Uma pequena quantidade (aproximadamente 0,2 g) de *spawn* de cogumelo foi inoculada em cada amostra com auxílio de uma alça de platina, esterilizada em chama até se tornar rubro/incandescente. Enquanto a alça de platina arrefeceu, o saco foi aberto, através da remoção do tampão de algodão, procurando-se manter a boca do saco acima da chama, bem como do saco contendo a cultura mãe. A cultura inicial foi introduzida no centro do saco e, rapidamente foi fechado o mesmo com o tampão de algodão. Este procedimento foi realizado para cada saco do experimento.

Para a fase de colonização micelial, as amostras foram deixadas lado a lado em recipiente plástico, armazenadas em recinto escuro com temperatura média de 22°C, sendo monitoradas diariamente.

4.2 ANÁLISES PARA CARACTERIZAÇÃO INICIAL E APÓS ENRIQUECIMENTO COM FUNGO

A determinação das propriedades físicas e químicas: massa seca (MS), cinzas ou matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina, celulose, extrato etéreo ou gordura bruta (EE), fibra bruta (FB) e digestibilidade *in vitro* das amostras de farelo da polpa, farelo da polpa tostado, farelo da amêndoa, farelo da amêndoa tostado e epicarpo, antes e após o enriquecimento com fungos, foi realizada em triplicata, no Laboratório de Nutrição Animal/ Faculdade de Ciências Agrárias/UFGD.

As mesmas amostras foram submetidas à análise de minerais, sendo todos os ensaios realizados em triplicata, no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria Aplicada-LECA/ Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia/UFGD.

As amostras dos farelos de polpa e amêndoa foram trituradas em liquidificador industrial, sendo realizada uma análise granulométrica deste material, já o epicarpo foi moído em moinho de facas provido na saída com peneira de 1 mm.

Todas as análises foram feitas em base úmida.

4.2.1 Análises do Teor Nutricional

4.2.1.1 Matéria seca - MS (SILVA e QUEIROZ, 2002).

As amostras foram submetidas a aquecimento em estufa (Mod. S180 ST, Marca Biopar), a temperatura de 105°C, por 16 h (durante uma noite). Em seguida, as mesmas foram deixadas em dessecador até atingir temperatura ambiente e, então, foram pesadas. O teor de matéria seca foi calculado por diferença de massa das amostras antes e após esse tratamento.

4.2.1.2 Cinzas ou Matéria Mineral - MM (SILVA e QUEIROZ, 2002).

As cinzas resultaram da incineração das amostras durante 2 h, após a mufla (Mod. 0612, Fornos Jung) atingir a temperatura de 600°C. Após este tempo, aguardou-se o decaimento da temperatura até atingir aproximadamente 250°C para então, transferir as amostras para um dessecador até atingir temperatura ambiente e serem pesadas. Para calcular a matéria mineral (MM), utilizou-se a Equação (1):

$$\% \text{ Cinzas} = \frac{[(\text{Massa cadinho com as cinzas}) - (\text{Massa cadinho vazio})]}{\text{Massa da amostra}} \times 100 \quad (1)$$

4.2.1.3 Proteína Bruta - PB (SILVA e QUEIROZ, 2002).

A proteína bruta foi determinada pelo método clássico de Kjeldahl. Cada amostra foi pesada em tubo de Kjeldahl (em torno de 0,3 g) e posteriormente foi adicionado ácido sulfúrico concentrado e mistura catalítica (10 partes de sulfato de sódio e 1 parte de sulfato de cobre), para então ir para o bloco digestor (Mod. MA 4025/SCR, Marca Marconi). A temperatura foi gradualmente aumentada até atingir aproximadamente 350°C e o conteúdo do tubo apresentar uma coloração transparente/esverdeada. Esta condição foi atingida em torno de 4 h após início da digestão. Uma prova em branco foi conduzida juntamente com o teste.

Ao final da digestão e a amostra estando fria, adicionou-se água destilada e, após conexão em equipamento de destilação (Mod. TE – 0363, Marca Tecnal), foi dispensado soda cáustica 50% (m/v), sendo a amônia liberada nesta reação recolhida em solução de ácido bórico (até atingir cerca de 50 mL no Erlenmeyer) e, posteriormente titulada com ácido clorídrico padronizado até atingir coloração púrpura.

A percentagem de proteína foi obtida através da Equação (2).

$$\% \text{ Proteína} = \frac{(V_{\text{gasto}} - V_{\text{branco}}) \times FC \times (N \times 14 \times 6,25)}{m_{\text{amostra}} \times 1000} \times 100 \quad (2)$$

onde V_{gasto} , é o volume gasto na titulação em mL; V_{branco} , é o volume gasto na titulação do branco em mL; FC é o Fator de correção do ácido utilizado na titulação; N é a Normalidade do ácido utilizado na titulação; 14 é o peso atômico do Nitrogênio; 6,25 é um fator de conversão de nitrogênio para proteína e m_{amostra} é a massa da amostra em gramas.

4.2.1.4 Fibra em Detergente Neutro - FDN (DETMANN *et al.*, 2012 segundo Van Soest, 1967).

As amostras para análise de FDN foram pesadas em sacos de tecido TNT, previamente tratados com acetona, secos em estufa e identificados um a um. Após inserção das amostras, os mesmos foram selados por calor e acondicionados em aparelho determinador de fibras (Mod. TE – 149, Marca Tecnal) onde se adicionou a solução de detergente neutro (solução composta por sulfato láurico de sódio, ácido etilenodiamino tetra-acético – EDTA, tetraborato de sódio, fosfato de sódio dibásico, trietilenoglicol e água destilada, previamente preparada e conservada sob refrigeração até o momento da análise) e foi mantido por 1 h a 105°C.

Após este tempo, os sacos foram removidos do aparelho e lavados, primeiramente com água destilada quente (temperatura $\geq 90^\circ\text{C}$) seguido de acetona e, então, levados a estufa por 24 h a 105°C. Da estufa foram colocados em dessecador até atingir temperatura ambiente para posteriormente ser pesados. Após o término

deste procedimento, os sacos não foram descartados para posterior análise sequencial da fibra em detergente ácido. O cálculo utilizado para resultados de FDN seguiu a Equação (3).

$$\% FDN = \frac{[(\text{Massa saco após estufa}) - (\text{Massa saco vazio})]}{\text{Massa amostra}} \times 100 \quad (3)$$

4.2.1.5 Fibra em Detergente Ácido - FDA (DETMANN *et al.*, 2012 segundo Van Soest, 1967).

Os sacos de tecido TNT após análise de FDN, foram novamente acondicionados em aparelho determinador de fibras (Mod. TE – 149, Marca Tecnal) onde se adicionou a solução de detergente ácido (solução composta por brometo de cetil trimetilamônio, ácido sulfúrico concentrado e água destilada, previamente preparada e conservada sob refrigeração até o momento da análise) e foi mantido por 1 hora a 105°C.

Após este tempo, os sacos foram removidos do aparelho e lavados com água destilada quente (temperatura $\geq 90^\circ\text{C}$) e com acetona e, então, levados a estufa por 24 horas a 105°C. Da estufa foram colocados em dessecador até atingir a temperatura ambiente para poder ser pesados e posteriormente realizar o cálculo da porcentagem de FDA (Equação 4). As amostras desta etapa também não foram descartadas, pois o conteúdo residual de cada um dos saquinhos foi utilizado na análise de lignina.

$$\% FDA = \frac{[(\text{Massa saco após estufa}) - (\text{Massa saco vazio})]}{\text{Massa da amostra FDN}} \times 100 \quad (4)$$

4.2.1.6 Lignina (SILVA e QUEIROZ, 2002 segundo Van Soest, 1967).

A análise de lignina foi realizada através do método “permanganato”. Os sacos de tecido TNT resultantes da análise de FDA foram abertos e cada amostra restante no interior do saquinho foi pesada em cadinhos filtrantes, previamente secos em estufa. O conjunto, cadinhos filtrantes mais resíduos da fibra foram colocados em uma bandeja de vidro, com uma camada de água destilada de 2 a 3 cm de altura, de forma que a água atingisse a parte inferior dos cadinhos e as amostras começassem a umedecer. Em seguida foi adicionada uma solução combinada de permanganato de potássio (mistura de solução de KMnO_4 com solução tampão na razão 2:1 v/v) em cada cadinho e, para permitir que a solução entrasse em contato com todas as partículas, o conteúdo foi mexido com pequenos bastões de vidro a cada 15 min por um período de tempo compreendido entre 1,5 e 2 h, mantendo o nível da solução de permanganato nos cadinhos igual ao nível de água na bandeja, completando a solução, se necessário.

Após o tempo as amostras foram filtradas sob vácuo e os cadinhos filtrantes esgotados foram colocados em uma bandeja de vidro limpa, com água. Uma solução de desmineralização (solução composta por ácido oxálico, etanol, ácido clorídrico concentrado e água destilada) foi adicionada deixando em contato por 10-15 min, até o resíduo ficar claro (cor amarelada a branca), completando com a solução, se necessário. Em seguida foram filtrados e lavados com uma solução de etanol a 80% (V/V). Os cadinhos contendo as amostras foram novamente succionados a vácuo, sendo repetido este procedimento, de lavagem com álcool e filtração, por mais duas vezes. De maneira similar foram feitas mais duas lavagens com acetona, sempre filtrando sob vácuo até esgotar.

Os cadinhos filtrantes com os resíduos foram secos em estufa durante uma noite a 100°C, removidos após para dessecador e pesados para cálculo, conforme Equação (5). As amostras não foram descartadas para, de forma sequencial, analisar celulose.

$$\% \text{ Lignina} = \frac{[(\text{Massa cadinho vazio} + \text{Massa amostra}) - (\text{Massa cadinho após estufa})]}{\text{Massa da amostra de FDN}} \times 100 \quad (5)$$

4.2.1.7 Celulose (SILVA e QUEIROZ, 2002 segundo Van Soest, 1967).

Para se obter a quantidade de celulose a partir do resíduo de lignina, submeteu-se os cadinhos filtrantes para queima em mufla a 500°C, pelo tempo de 3 h. Após esse tempo aguardou-se o decaimento da temperatura até atingir aproximadamente 250°C para então, transferir as amostras para um dessecador até atingir temperatura ambiente e serem pesadas. Para calcular a percentagem de celulose utilizou-se a Equação (6):

$$\% \text{ Celulose} = \frac{[(\text{Massa cadinho lignina após estufa}) - (\text{Massa cadinho após mufla})]}{\text{Massa da amostra de FDN}} \times 100 \quad (6)$$

4.2.1.8 Extrato Etéreo ou Gordura - EE (SILVA e QUEIROZ, 2002 adaptado pelo Laboratório de Nutrição Animal/UFGD, para uso em equipamento Marconi modelo MA 044/8/50).

A análise de gordura foi realizada pelo método a quente utilizando-se hexano como solvente. As amostras foram pesadas em cartuchos preparados com filtro de papel, embrulhados em forma de trouxinha, de forma a não perder amostra. Os copos reboiler (frascos de vidro) do determinador de óleos e graxas (Mod. MA 044/8/50, Marca Marconi) também foram pesados, tendo, em ambas as pesagens, cuidado para não tocar nos materiais com as mãos sem luvas, ou com as luvas sujas, pois podem absorver gordura, alterando o resultado final da amostra.

A trouxinha contendo a amostra foi colocada no suporte do extrator, de modo a ser mergulhada em seu respectivo copo contendo hexano, também encaixado ao equipamento. Após ligar o sistema de resfriamento dos condensadores acionou-se o interruptor elétrico de forma a atingir uma temperatura de 85°C. Após cair a primeira gota de solvente nos copos, aguardou-se um tempo de 2 h, para então iniciar a recuperação do solvente. Os copos foram levados a estufa a 105°C por 15 min e,

posteriormente, transferidos para um dessecador antes de proceder a pesagem dos mesmos. O percentual de gordura foi calculado por diferença de massa dos copos reboiler antes e após esta extração.

4.2.1.9 Fibra Bruta - FB (SILVA e QUEIROZ, 2002 adaptado pelo Laboratório de Nutrição Animal/UFGD, para uso em equipamento Marconi modelo MA 044/8/50).

As amostras para análise de FB foram pesadas em sacos de tecido TNT, previamente tratados com acetona, secos em estufa e identificados. Após inserção das amostras os mesmos foram selados por calor e acondicionados em aparelho determinador de fibras (Mod. TE – 149, Marca Tecnal) onde se iniciou a primeira digestão com a adição da solução de ácido sulfúrico (0,255 N) sendo mantidos no equipamento por 30 min a 100°C.

Após este tempo, os sacos foram removidos do aparelho e lavados com água destilada quente (temperatura $\geq 90^\circ\text{C}$) e novamente inseridos no aparelho, desta vez para realizar a digestão básica, sendo adicionado solução de hidróxido de sódio (0,313 N) e mantido em fervura por mais 30 min. Após, os sacos foram removidos do equipamento e lavados com água destilada quente e com acetona e, então, levados a estufa por 24 h a 105°C.

Da estufa foram colocados em dessecador até atingir a temperatura ambiente para poder ser pesados e colocados em cadinhos (também previamente secos em estufa e pesados) para serem submetidos a queima em mufla a temperatura de 500°C por 2 h. Os cadinhos removidos da mufla foram colocados em dessecador para posterior pesagem.

O cálculo utilizado para resultados de % de fibra, % cinzas e % FB seguiu as Equações (7), (8) e (9).

$$\% \text{ Fibra} = \frac{[(\text{Massa saco após estufa}) - (\text{Massa saco vazio})]}{\text{Massa da amostra}} \times 100 \quad (7)$$

$$\% \text{ Cinza} = \frac{[(\text{Massa cadinho após mufla}) - (\text{Massa cadinho vazio})]}{\text{Massa da amostra}} \times 100 \quad (8)$$

$$\% \text{ FB} = \% \text{ Fibra} - \% \text{ Cinzas} \quad (9)$$

4.2.1.10 Digestibilidade *in vitro* (SILVA e QUEIROZ, 2002 segundo Tilley e Terry, 1963 - Procedimento em duas etapas).

Para a primeira etapa da análise de digestibilidade *in vitro*, as amostras foram pesadas em sacos de tecido TNT, previamente tratados com acetona, secos em estufa e numerados um a um. Após inserção da amostra os mesmos foram selados por calor e colocados em tubos/potes, próprios para o ensaio. Foi adicionada aos tubos saliva artificial (solução tampão de Mc Dougall), e inóculo de rúmen; sempre na presença de gás carbônico sobre a superfície do conteúdo dos tubos com o intuito de se eliminar o oxigênio presente. Imediatamente os tubos foram fechados com rolhas de borracha equipada com válvula de Bunsen e incubados por 48 h a 39°C, em estufa de temperatura controlada, sofrendo agitações suaves através de giro constante.

Após as 48 h de digestão microbiana, iniciando a segunda etapa da análise, os tubos foram retirados da estufa e adicionado aos mesmos uma solução de ácido clorídrico 6 N e uma solução de pepsina 5% (m/v). Os tubos foram colocados de volta à estufa, destampados, para nova incubação durante 24 h a 39°C, com agitação constante. Passado este tempo, os sacos foram retirados de dentro dos tubos e lavados em água corrente, levados à estufa a 105°C por uma noite, esfriados em dessecador e pesados. Uma prova em branco foi conduzida juntamente na análise e o cálculo, já em matéria seca, utilizado para os resultados seguiu a Equação (10).

$$\% \text{ Digestibilidade in vitro da matéria seca} = \frac{[A - (B - Br)]}{A} \times 100 \quad (10)$$

onde

A = (massa da amostra x matéria seca/100);

B = (massa saquinho após estufa – massa do saquinho vazio);

Br = (massa saquinho com a prova em branco após estufa – massa saquinho vazio).

4.2.1.11 Determinação de Minerais (Conforme manual do equipamento, adaptado pelo Laboratório de Cromatografia e Espectrometria Aplicada-LECA/ Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia/UFGD).

A determinação de macro e microminerais foi realizada através de tratamento inicial com adição de ácido nítrico concentrado nas amostras pesadas em tubos específicos e deixadas em repouso por 12 h. Após esse período para iniciar a digestão orgânica em bloco digestor, foi adicionado ácido clorídrico concentrado e peróxido de hidrogênio (30 volumes). As amostras foram aquecidas lentamente até atingir a temperatura de 180°C, por aproximadamente 4 h, até se observar o clareamento da solução. Eventuais alíquotas de peróxido de nitrogênio foram adicionadas durante a digestão de forma a otimizar o processo.

Após as amostras arrefecerem, foram filtradas e avolumadas com água destilada para 25 mL, sendo realizada desta diluição a leitura dos micro elementos: Cobre (Cu), Ferro (Fe), Manganês (Mn) e Zinco (Zn). Já para os macronutrientes: Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg), os extratos foram diluídos 20 vezes em meio a 1% (m/v) de Óxido de Lantânio III.

A quantificação dos elementos foi realizada por espectrofotometria de absorção atômica utilizando uma curva padrão para cada mineral. As soluções estoque foram preparadas, a partir de soluções padrão dos metais (SpecSol, sendo rastreadas pela SRM 682 para Cu, Mg, Zn, Ca e Mg e SRM 3126a para o Fe), em concentrações de 1000 µgL⁻¹. Para se determinar a faixa linear foram construídas curvas de calibração com concentrações crescentes das soluções de referência.

Para todas as medidas experimentais foi utilizado o equipamento espectrofotômetro de absorção atômica em chama AA 240FS equipado com

lâmpadas de cátodo oco monoelementares, estando todas as condições de operação listadas na Tabela 2.

Tabela 2 – Parâmetros instrumentais do espectrômetro AA 240FS utilizados para determinação de Cu, Fe, Mn, Zn, Ca e Mg em todas as medidas experimentais.

Parâmetros Instrumentais	Cu	Fe	Mn	Zn	Ca	Mg
Fonte de radiação	LCO*					
Linha atômica (nm)	324,8	248,3	279,5	213,9	422,7	202,6
Corrente de lâmpada (mA)	4	5	5	5	10	4
Fenda de saída (nm)	0,5	0,2	0,2	1,0	0,5	1,0
Composição da chama	Ar/Acetileno					
Vazão de acetileno (L min ⁻¹)	2,0				2,2	2,0
Vazão de oxidante (L min ⁻¹)	13,0				13,4	13,0
Queimador (mm)	100				50	
Taxa de aspiração (mL min ⁻¹)	5,0					
Medida	Absorbância					
Método de Calibração	Padrão externo					

*LCO – lâmpadas de cátodo-oco

4.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todos os parâmetros foram analisados para cada tratamento experimental utilizando-se o programa Microsoft Excel 2010, como ferramenta para aplicar o teste *t* de Student, a partir da média e do desvio padrão das amostras, determinando-se os parâmetros relevantes, para um nível de confiança de 95%.

CAPÍTULO 5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 TOSTAGEM

Com o intuito de se remover o solvente que ainda pudesse estar presente nas amostras de farelo da polpa e farelo da amêndoa que passaram pela extração de óleo utilizando hexano, as mesmas foram submetidas ao processo de tostagem, realizado em estufa a 70°C por 24 h. A perda de solvente e outros constituintes que se volatilizaram a esta temperatura variou entre 6 e 7% para ambos os farelos. É conveniente salientar que essas porcentagens são relativamente baixas em comparação à massa de farelo tostada.

Para o epicarpo não foi necessário realizar a tostagem, pois o mesmo não passou pelo processo de extração com solvente.

5.2 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA DOS FARELOS DA POLPA E AMÊNDOA

Os farelos da polpa e da amêndoa foram somente triturados em liquidificador industrial. As tentativas de obtenção de material moído em moinho de facas não foram bem sucedidas devido ao alto teor de óleo ainda presente nos farelos, que provocou grande adensamento do material dentro das paredes do moinho, não resultando em um pó fino como o esperado. Já o epicarpo foi moído em moinho de facas dotado de peneira de 1 mm.

O material obtido na trituração dos farelos da polpa e amêndoa foi conduzido para uma análise granulométrica, em uma série padrão de peneiras Tyler com aberturas (malhas) de: 8, 14, 48 e 80 mesh. O teste foi realizado com nível de vibração 5 durante 2 min (Tabela 3).

Conforme relatado na Tabela 3, o tamanho de partícula para o farelo da polpa apresentou uma distribuição percentual aproximadamente uniforme nas peneiras empregadas na análise. Já para o farelo da amêndoa encontrou-se que a maior parte das partículas estava distribuída entre 14 e 48 mesh. Isto é possivelmente devido a maior concentração de óleo no farelo da amêndoa, ocasionando maior aglomeração das partículas da amostra.

Tabela 3 - Granulometria das amostras de farelo da polpa e amêndoa trituradas em liquidificador industrial.

Amostras	Peneiras (Tyler/mesh)				
	8	14	48	80	>80
Farelo da polpa	22,76%	17,64%	24,73%	17,33%	17,54%
Farelo da amêndoa	14,93%	38,16%	44,09%	2,79%	0,02%

A determinação granulométrica das amostras de farelo é importante para que se estabeleça um padrão de partículas e porosidade que influenciam diretamente no processo de crescimento dos fungos (BREYER, PAZ e GIOVANNI, 2007).

5.3 CARACTERIZAÇÃO INICIAL DAS AMOSTRAS

Na Tabela 4 são apresentados os resultados experimentais relativos à caracterização inicial do farelo da polpa (*in natura* e tostado), farelo da amêndoa (*in natura* e tostado) e do epicarpo da macaúba, sendo estes em base úmida.

Tabela 4 - Composição centesimal das análises realizadas nos resíduos da extração do óleo de macaúba (*Acrocomia aculeata*) em base úmida.

Análises realizadas (%)	Amostras				
	Farelo polpa <i>in natura</i>	Farelo polpa tostado	Farelo amêndoa <i>in natura</i>	Farelo amêndoa tostado	Epicarpo
Matéria Seca	85,41 ± 0,94	92,57 ± 0,37	95,10 ± 0,06	96,22 ± 0,05	92,18 ± 0,96
Cinzas	5,65 ± 0,06	6,34 ± 0,10	2,96 ± 0,08	3,06 ± 0,02	4,56 ± 0,06
Proteína Bruta	4,08 ± 0,27	4,49 ± 0,14	22,36 ± 0,58	22,32 ± 0,45	3,01 ± 0,18
FDN	50,57 ± 2,86	52,70 ± 1,57	68,21 ± 2,26	69,77 ± 2,04	62,49 ± 0,64
FDA	12,45 ± 0,30	13,56 ± 0,48	44,76 ± 2,21	44,88 ± 1,93	42,94 ± 0,02
Lignina	2,65 ± 0,99	3,06 ± 0,23	20,44 ± 3,16	21,10 ± 4,65	6,57 ± 0,23
Celulose	7,93 ± 0,42	7,50 ± 0,44	21,26 ± 1,50	19,58 ± 1,95	34,29 ± 0,75
Fibra Bruta	9,04 ± 0,55	11,32 ± 0,85	38,77 ± 1,12	32,63 ± 2,51	41,53 ± 1,49
Extrato Etéreo	3,82 ± 0,17	5,43 ± 0,11	35,82 ± 0,40	34,46 ± 1,44	8,53 ± 0,60

Dados apresentados como média dos valores ± desvio padrão das determinações em triplicata; FDN = Fibra em Detergente Neutro; FDA = Fibra em Detergente Ácido.

É conveniente salientar que na maior parte dos estudos encontrados na literatura a informação da composição nutritiva dos alimentos é apresentada em base seca. Como a metodologia de análise resulta em dados relativos à base úmida, foi realizada a transformação percentual de base úmida para base seca, dividindo-se os valores experimentais encontrados pelo valor da matéria seca.

A discussão desses resultados será realizada baseando-se nos resultados em base seca, Tabela 5.

Tabela 5 - Composição centesimal das análises realizadas nos resíduos da extração do óleo de macaúba (*Acrocomia aculeata*) em base seca.

Análises realizadas (%)	Amostras				
	Farelo polpa <i>in natura</i>	Farelo polpa tostado	Farelo amêndoa <i>in natura</i>	Farelo amêndoa tostado	Epicarpo
Matéria Seca	85,41 ± 0,94	92,57 ± 0,37	95,10 ± 0,06	96,22 ± 0,05	92,18 ± 0,96
Cinzas	6,61 ± 0,07	6,85 ± 0,10	3,11 ± 0,08	3,18 ± 0,02	4,95 ± 0,07
Proteína Bruta (PB)	4,83 ± 0,33	4,85 ± 0,15	23,72 ± 0,61	23,19 ± 0,47	3,31 ± 0,21
FDN	60,51 ± 3,35	56,93 ± 1,69	72,14 ± 2,66	72,51 ± 2,12	67,79 ± 0,70
FDA	14,89 ± 0,37	14,64 ± 0,52	47,34 ± 2,55	46,64 ± 2,01	47,00 ± 0,74
Lignina	3,17 ± 1,19	3,31 ± 0,25	21,68 ± 3,35	21,93 ± 4,83	7,32 ± 0,25
Celulose	9,48 ± 0,51	8,16 ± 0,48	22,55 ± 1,59	20,35 ± 2,04	38,20 ± 0,83
Celulose Teórica*	10,29	10,50	24,32	23,78	36,37
Hemicelulose Teórica**	75,40	71,57	119,48	119,15	114,79
MO Teórica***	93,39	93,15	96,89	96,82	95,05
Fibra Bruta (FB)	10,84 ± 0,66	12,23 ± 0,92	40,77 ± 1,18	33,91 ± 2,60	45,06 ± 1,61
Extrato Etéreo	4,57 ± 0,20	5,91 ± 0,13	37,98 ± 1,60	35,80 ± 1,50	9,69 ± 0,68
Digestibilidade	96,73 ± 2,40	94,16 ± 4,81	82,17 ± 4,05	84,59 ± 1,03	35,28 ± 3,21

Dados apresentados como média dos valores ± desvio padrão das determinações em triplicata; FDN = Fibra em Detergente Neutro; FDA = Fibra em Detergente Ácido; Celulose Teórica* = % FDA - % Lignina; Hemicelulose Teórica** = % FDN + % FDA; MO = Matéria Orgânica Teórica*** = 100 - Cinzas

Em relação à tostagem, comparando-se o farelo da polpa *in natura* com o farelo da polpa tostado e o farelo de amêndoa *in natura* com o farelo de amêndoa tostado, pode-se perceber, estatisticamente, diferenças significativas em algumas análises, porém não foram valores tão discrepantes, evidenciando que as divergências encontradas podem não ser relevantes a ponto de dispender maior quantidade de energia e tempo no processo de tostagem.

Pela análise de cinzas, que é um indicativo de quão rica é a amostra em elementos minerais, pode-se verificar um maior índice no farelo da polpa seguido do epicarpo e, por último do farelo da amêndoa.

A análise de proteína bruta evidenciou que o farelo da amêndoa possui maior valor proteico, confirmando com isso ser muito valorizado como ingrediente para compor a ração animal. Este mesmo farelo, comparado ao farelo da polpa, também

apresentou valor mais elevado para análise de FDN, FDA, lignina, celulose, fibra bruta e extrato etéreo, sendo classificado como volumoso (FB > 18% na matéria seca) seco (umidade < 12%). Já o farelo da polpa pode ser classificado como concentrado (FB < 18% na matéria seca) energético (PB < 20% na matéria seca) (GONÇALVES *et al.*, 2009; SALMAN *et al.*, 2010) .

Os altos valores de FDN são indicativos de limitação de seu uso em grandes quantidades, devido ocasionar enchimento no trato gastrointestinal, dificultando a digestão pelas enzimas alimentares do organismo animal e a absorção no intestino, sendo os componentes principais dessa fibra: celulose, hemicelulose e lignina dentre outros.

Com exceção do farelo da polpa, para as amostras avaliadas neste trabalho os valores de FDN são superiores ao indicado como ideal, que costuma ter ampla variação, porém um bom nível estabelecido é ao redor de 50%.

Os valores encontrados na caracterização inicial para FDN encontram-se entre 57 e 73%. Isto indica que o consumo deste alimento pode ocasionar limitação da ingestão da matéria seca, uma vez que a fibra, na maioria das vezes, apresenta uma menor taxa de trânsito ruminal. Assim, o animal consome o alimento até que atinja a capacidade máxima de ingestão de FDN, passando então a inibi-la, ocasionando a interrupção do consumo, sendo este ponto de transição entre o controle físico e fisiológico, função do potencial genético de cada animal (BARRETO, 2008).

Nesta mesma linha, valores de FDN superiores a 60% como os encontrados nessas amostras, são descritos por Van Soest (1994), como a relação que esses valores de fibra têm com a densidade volumétrica do alimento, representando assim a fração de digestão lenta, correlacionando com o enchimento ruminal e o consumo da matéria seca. Já a FDA, composta basicamente por celulose e lignina (fração menos digestível do alimento) relaciona esta fração de fibra com a digestibilidade do alimento, podendo ser visto na Tabela 5 que o farelo da amêndoa é o que possui os maiores valores para FDA, lignina e celulose, sendo confirmado nesta mesma tabela o menor índice de digestibilidade para este mesmo farelo em relação ao farelo da polpa. Estes índices confirmam o elevado teor de parede celular e grau de lignificação do farelo de amêndoa.

Contudo, o teor de proteína bruta do farelo de amêndoa é relativamente razoável para ruminantes, ao contrário do encontrado para o farelo da polpa e epicarpo, que mostraram ser de baixo valor proteico.

Neste caso, o farelo da polpa e o epicarpo, embora apresentem valores baixos para proteína bruta, são ricos em fibras, podendo ser recomendado seu uso na fertilização do solo ou, sendo dosados junto ao farelo da amêndoa, em quantidades que necessitam ser pré-definidas através de pesquisas específicas ou, ainda, na utilização para produtos de culinária como: sucos, sorvetes e massas.

A fibra alimentar, com valores mais elevados para o farelo da amêndoa seguida do epicarpo, está relacionada a aspectos positivos no organismo humano como redução de pressão sanguínea e efeitos antioxidantes, sendo associados a uma diminuição na incidência de doenças crônicas não transmissíveis, como câncer do trato gastrointestinal, o que ressalta a importância em se agregar alimentos ricos nestes nutrientes a uma dieta alimentar saudável (CHO e DREHER, 2001; DHINGRA *et al.*, 2012).

O extrato etéreo indica a quantidade total de gorduras presentes na amostra. O elevado valor de extrato etéreo como o encontrado nas amostras de farelo da polpa também pode representar aspecto positivo, haja vista um bom limite de inclusão em dietas de ruminantes ser em torno de 5% de gordura (BARBOSA, 2010). Em geral os volumosos contêm baixos teores de gordura e, deste modo este nutriente tende a estar sempre em pequenas quantidades nas dietas de ruminantes. Por outro lado, deve ser observado que dietas com excessivas quantidades de gordura podem causar mudanças na fermentação ruminal, pois um dos efeitos dos lipídeos é a redução do crescimento microbiano, podendo afetar a degradação ruminal (SOBREIRA, 2011; BARRETO, 2008).

Neste caso, em particular, o elevado teor de gordura encontrado nas amostras de farelo estudadas pode ser resultante da metodologia da extração dos óleos empregada. O processo realizado em nosso laboratório (trituração manual, seguida de extração por solvente) está limitado aos procedimentos de bancada, visando apenas a obtenção dos óleos com o mínimo de oxidação dos mesmos. Em um procedimento comercial, que se vislumbra retorno financeiro, os processos de extração são exaustivos, afinal o óleo extraído possui valor de mercado superior ao dos farelos em geral.

Sobreira (2011) descreve no capítulo 1 de seu trabalho valores de 2,7% e 21,5% com base na massa seca de extrato etéreo para o epicarpo e polpa de macaúba respectivamente, bem como 66,3% e 44,8% para FDN e 42,3% e 21,4% para FDA, também para o epicarpo e polpa respectivamente, valores esses citados para o epicarpo similares quando comparados aos da Tabela 5.

Em pesquisas realizadas com a torta da amêndoa de dendê, com níveis médios de extrato etéreo de 12,94%, proteína 14,51%, FDN 78,60% e FDA 52,82%, Barbosa (2010) concluiu que, pelas características de digestibilidade, degradabilidade *in situ*, taxa de passagem e produção de ácidos graxos voláteis, a mesma é um alimento volumoso e pode ser utilizado até um nível de inclusão de 60% para bubalinos. Esta inclusão mostrou ainda que, apesar de não aumentar a produção de leite de búfalas melhorou seus constituintes sólidos, principalmente gordura e proteína. Neste trabalho podem ser verificados valores semelhantes para FDN e FDA para as amostras de farelo de amêndoa, porém com o diferencial de possuir valor de proteína bruta muito superior.

Para fins de comparação com outros trabalhos relacionados com farelo da polpa, farelo de amêndoa e epicarpo da macaúba, a Tabela 6 apresenta alguns desses valores encontrados na literatura.

Tabela 6 - Dados da composição centesimal de alguns parâmetros das amostras de farelo da polpa, farelo da amêndoa e epicarpo da macaúba (*Acrocomia aculeata*) em publicações encontradas na literatura.

Autores → Análises realizadas (%) ↓	CETEC 1983*			SOBREIRA 2011**		
	Farelo da Polpa	Farelo da Amêndoa	Epicarpo	Farelo da Polpa	Farelo da Amêndoa	Epicarpo
Matéria Seca	–	–	–	92,12	91,00	88,0
Cinzas	6,5	5,1	2,8	4,32	4,62	–
Proteína Bruta	8,5	50,1	–	7,77	26,11	3,02
FDN	–	–	–	46,62	45,93	66,3
FDA	–	–	–	30,18	31,01	42,3
Lignina	7,9	10,2	29,5	–	–	33,5
Fibra Bruta	37,3	34,1	55,8	–	–	–
Extrato Etéreo	–	–	–	10,54	10,48	2,7

*Não relatado desvio padrão e base seca ou úmida; **Não relatado desvio padrão e os resultados estão em base seca – Capítulo 2 do trabalho.

Comparando os dados das Tabelas 5 e 6, é possível observar a similaridade entre os valores de cinzas do farelo da polpa *in natura* no presente trabalho (6,61%) e o primeiro autor descrito na Tabela 6 (6,5%). Outras comparações entre as mesmas tabelas, cujos resultados apresentaram valores aproximados, são para o epicarpo, nas análises de proteína bruta, FDN e FDA, para o segundo autor (SOBREIRA, 2011). O restante dos parâmetros apresentaram valores discrepantes, podendo ser salientado a proteína bruta do farelo da amêndoa (CETEC, 1983) como o valor de maior desvio entre as tabelas.

A variação da composição destes e outros nutrientes se devem principalmente à origem do fruto em distintas regiões, podendo haver variedades de espécie, de solo, adubação, clima e diferentes graus de maturidade dos frutos submetidos à análise. Enfim, muitos desses fatores podem influenciar nos resultados ocasionando divergências, podendo ser levado em conta também, o tipo de processamento realizado com os frutos, bem como o armazenamento e conservação dos mesmos.

5.4 BIOCONVERSÃO E ENRIQUECIMENTO POR MICRORGANISMOS

A bioconversão com fungos foi um processo biotecnológico de cultivo em estado sólido aplicado aos resíduos da macaúba, servindo estes como substrato. Os resultados obtidos neste estudo mostram o enriquecimento dos parâmetros nutritivos e digestivos desses resíduos, trazendo como principal benefício à possibilidade de sua utilização em ração animal e alimentos destinados a humanos.

5.4.1 Etapa de Esterilização e Inoculação com Fungos

Esta etapa é antecedente a inoculação sendo realizada a esterilização do material, (saco mais amostras e tampão de algodão), devido aos farelos (amostras) que serviram como substrato poder conter grandes quantidades de contaminantes (bactérias e fungos) e cada um desses agentes não desejados serem capazes de deteriorar o meio de crescimento dos fungos. Dessa forma, partiu-se do pressuposto que a inoculação se realizou sob condições em que qualquer possibilidade de vida microbiológica foi eliminada.

Na Figura 7 pode-se visualizar a fase inicial de colonização micelial, onde após inoculação do fungo, as amostras foram deixadas lado a lado em recipiente plástico e armazenadas em armário fechado.

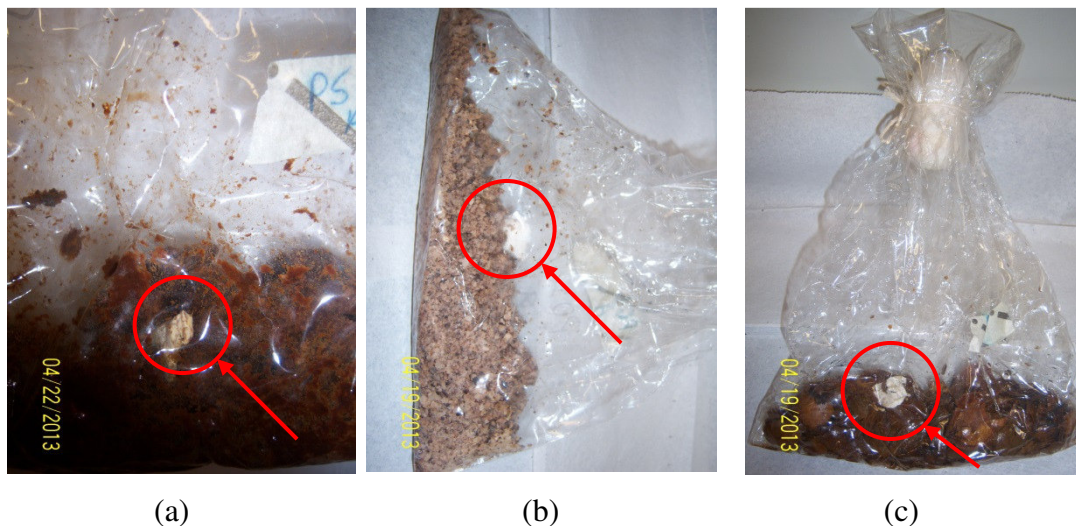


Figura 7 - Amostra de farelo: (a) da polpa, (b) da amêndoa e (c) epicarpo, após esterilização do material e inoculação dos fungos *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju*, através de adição de pequena quantidade de *spawn* dos mesmos.

5.4.2 Etapa de Crescimento Micelial

Na Figura 8 são apresentados os crescimentos gradativos dos fungos *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju* das amostras do farelo de amêndoa (*in natura* e tostado) que permaneceram por 24 dias em colonização micelial, sendo representado o terceiro, o quinto, o sétimo e o décimo dia após a incubação.

O andamento da incubação nos dias 14, 21 e 24 após início do experimento pode ser visualizado na Figura 9, sendo que, após os 24 dias de incubação em que o micélio se desenvolveu de forma a cobrir todo o substrato, os saquinhos foram abertos, colocados em béqueres e levados à estufa com circulação de ar a 70°C por 24 h, para etapa de secagem, sendo após triturados e armazenados em condição ambiente para análise.

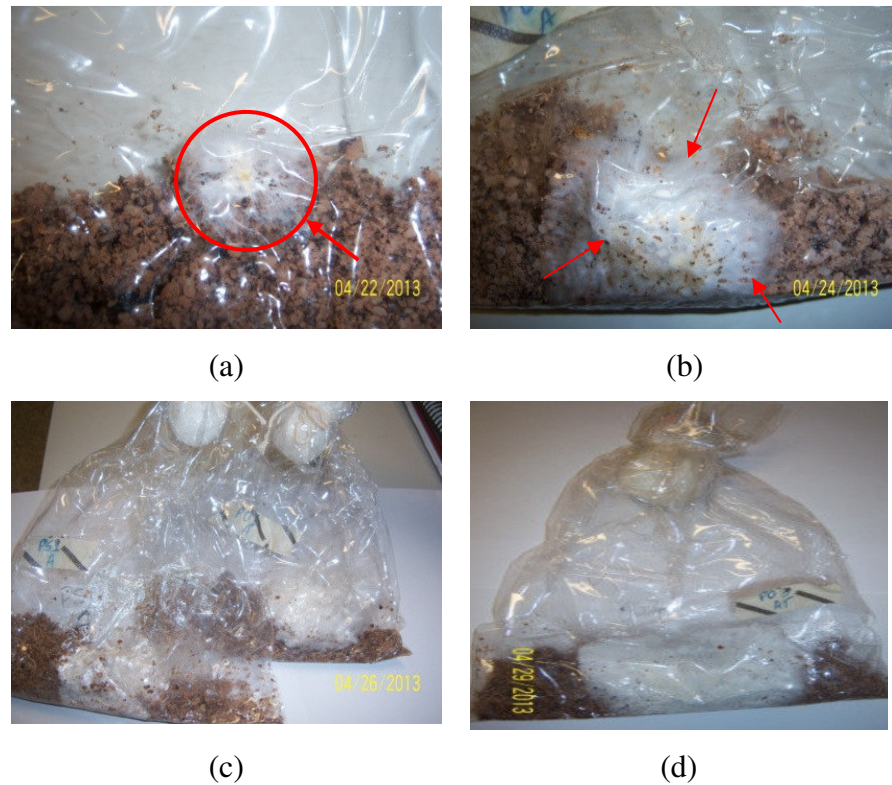


Figura 8 - Crescimento gradativo dos fungos *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju* nas amostras de farelo da amêndoa: (a) terceiro, (b) quinto, (c) sétimo e (d) décimo dia de incubação, respectivamente.



Figura 9 - Amostras de farelo de amêndoa com: (a) 14, (b) 21 e (c) 24 dias de incubação, respectivamente.

Na figura 10 pode-se ver o fungo já incorporado ao substrato, no caso, somente para as amostras de farelo de amêndoa para as quais o experimento foi concluído com sucesso, e no béquer após secagem.



Figura 10 - Amostra do farelo de amêndoa com o fungo já incorporado, após 24 dias de incubação (a) e o mesmo após secagem em estufa (b).

Para as amostras de farelo da polpa (*in natura* e tostado) e epicarpo, não houve o crescimento do fungo. Após 31 dias do experimento os sacos foram descartados.

Possivelmente o grau de compactação ou a hidratação, fatores que influenciam diretamente sobre a eficiência de aeração do sistema, não tenham sido adequados para o desempenho dos fungos, ou ainda, os próprios resíduos (farelo da polpa e epicarpo) não sejam um bom substrato para este cultivo de cogumelos (BREYER, PAZ e GIOVANNI, 2007).

A formação de micélios com colorações distintas a cor branca pode indicar a contaminação fúngica ou bacteriana, demonstrando que em algum passo realizado, de alguma forma a assepsia falhou ou o material foi recontaminado na etapa de inoculação.

Nos experimentos realizados ocorreu a contaminação em 16% da quantidade total, sendo estas descartadas tão logo fossem detectadas. Na Figura 11, abaixo pode ser vista a imagem de amostras contaminadas, através de coloração acinzentada.



Figura 11 - Exemplificação da contaminação fúngica ocorrida em algumas amostras.

5.5 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS APÓS ENRIQUECIMENTO COM FUNGOS

Os resultados obtidos para composição do farelo da amêndoa de macaúba, em base úmida, após o crescimento micelial devido inoculação com os fungos, são mostrados na Tabela 7.

Tabela 7 - Composição centesimal, em base úmida, das amostras de farelo de amêndoa de macaúba (*Acrocomia aculeata*) *in natura* e tostada, enriquecidas com fungo *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju*.

Análises realizadas (%)	Amostras			
	Farelo Amêndoa <i>in natura</i> - PO	Farelo Amêndoa Tostado - PO	Farelo Amêndoa <i>in natura</i> - PS	Farelo Amêndoa Tostado - PS
Matéria Seca	94,49 ± 0,22	95,03 ± 0,37	94,08 ± 0,26	94,75 ± 0,35
Cinzas	3,40 ± 0,21	3,36 ± 0,12	3,79 ± 0,10	3,69 ± 0,02
Proteína Bruta	25,72 ± 0,64	25,69 ± 0,64	29,03 ± 0,22	28,76 ± 0,58
FDN	24,65 ± 2,05	26,59 ± 0,72	24,02 ± 2,98	27,05 ± 1,84
FDA	11,09 ± 1,18	11,73 ± 0,35	11,35 ± 1,86	12,97 ± 1,58
Lignina	2,15 ± 0,23	2,18 ± 0,24	2,30 ± 0,45	2,88 ± 0,28
Celulose	7,31 ± 0,58	8,28 ± 0,36	7,34 ± 1,08	8,05 ± 0,87
Fibra Bruta	5,21 ± 0,14	5,83 ± 0,52	7,12 ± 1,00	6,99 ± 1,20
Extrato Etéreo	12,21 ± 0,89	12,74 ± 1,03	16,75 ± 0,95	15,20 ± 0,08

Dados apresentados como média dos valores ± desvio padrão das determinações em triplicata; PO: *Pleurotus ostreatus*; PS: *Pleurotus sajor-caju*; FDN = Fibra em Detergente Neutro; FDA = Fibra em Detergente Ácido

Como mencionado anteriormente para a caracterização inicial das amostras de farelo, a discussão será realizada baseando-se nos resultados em base seca, Tabela 8.

Tabela 8 - Composição centesimal, em base seca, das amostras de farelo de amêndoa de macaúba (*Acrocomia aculeata*) *in natura* e tostada, enriquecidas com fungo *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju*.

Análises realizadas (%)	Amostras			
	Farelo Amêndoa <i>in natura</i> - PO	Farelo Amêndoa Tostado - PO	Farelo Amêndoa <i>in natura</i> - PS	Farelo Amêndoa Tostado - PS
Matéria Seca	94,49 ± 0,22	95,03 ± 0,37	94,08 ± 0,26	94,75 ± 0,35
Cinzas	3,59 ± 0,22	3,53 ± 0,13	4,03 ± 0,11	3,89 ± 0,02
Proteína Bruta	27,21 ± 0,68	27,03 ± 0,67	30,86 ± 0,23	30,35 ± 0,61
FDN	26,09 ± 2,17	27,98 ± 0,75	25,53 ± 3,17	28,55 ± 1,94
FDA	11,75 ± 1,25	12,34 ± 0,37	12,07 ± 1,98	13,69 ± 1,67
Lignina	2,27 ± 0,24	2,28 ± 0,28	2,44 ± 0,48	3,04 ± 0,29
Celulose	7,73 ± 0,62	8,71 ± 0,38	7,80 ± 1,14	8,50 ± 0,92
Celulose Teórica*	8,94	9,55	9,05	10,09
Hemicelulose Teórica**	37,84	40,32	37,60	42,24
MO Teórica***	96,41	96,47	95,97	96,11
Fibra Bruta	5,51 ± 0,15	6,13 ± 0,55	7,57 ± 1,06	7,37 ± 1,26
Extrato Etéreo	12,92 ± 0,94	13,40 ± 1,08	17,80 ± 1,01	16,04 ± 0,08
Digestibilidade	89,63 ± 1,01	84,75 ± 4,69	85,05 ± 3,59	84,78 ± 1,88

Dados apresentados como média dos valores ± desvio padrão das determinações em triplicata; PO: *Pleurotus ostreatus*; PS: *Pleurotus sajor-caju*; FDN = Fibra em Detergente Neutro; FDA = Fibra em Detergente Ácido; * Celulose Teórica = % FDA - % Lignina; ** Hemicelulose Teórica = % FDN + % FDA; *** Matéria Orgânica Teórica = 100 – Cinzas

Assim como na caracterização inicial, pode-se perceber que em relação à tostagem, quando é comparado o farelo da amêndoa *in natura* com o farelo de amêndoa tostado, há pequenos desvios que, do ponto de vista nutritivo, não expressam uma significância que justifique o gasto com energia, tempo e outros aspectos que podem inviabilizar o processo industrial.

O primeiro aspecto que chama atenção positivamente é o aumento significativo da proteína e digestibilidade e, a redução significativa do restante dos parâmetros em relação a caracterização inicial, ou seja, sem fungo. Assim, o farelo da amêndoa passou de volumoso (FB > 18% na matéria seca) para concentrado (FB < 18% na matéria seca) e classificado como proteico (PB > 20% na matéria seca), sendo esta característica de grande valor por atribuir ao alimento alto teor energético por unidade de volume.

O valor de cinzas foi superior para ambos os tratamentos com fungos, sendo discretamente maior para o fungo *Pleurotus sajor-caju*. Esta mesma relação vale para o teor de proteína. Para a análise de fibra em detergente neutro os valores se apresentam drasticamente reduzidos para ambos os fungos em relação aos valores iniciais, sendo o fungo *Pleurotus sajor-caju* de valor inferior ao *Pleurotus ostreatus*. Nas análises de FDA, lignina e celulose também a redução foi discrepante em relação ao inicial, porém o tipo de fungo praticamente não influenciou. Os resultados de fibra bruta e extrato etéreo foram bem inferiores após o tratamento com fungos, sendo o fungo *Pleurotus sajor-caju* quem apresentou valores mais altos quando comparado com o *Pleurotus ostreatus*.

A Figura 12 mostra um comparativo dos resultados obtidos de cada parâmetro avaliado para o farelo de amêndoa *in natura* em sua caracterização inicial, ou seja, sem inoculação com fungos e, após inoculação com cada tipo de fungo, *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju*.

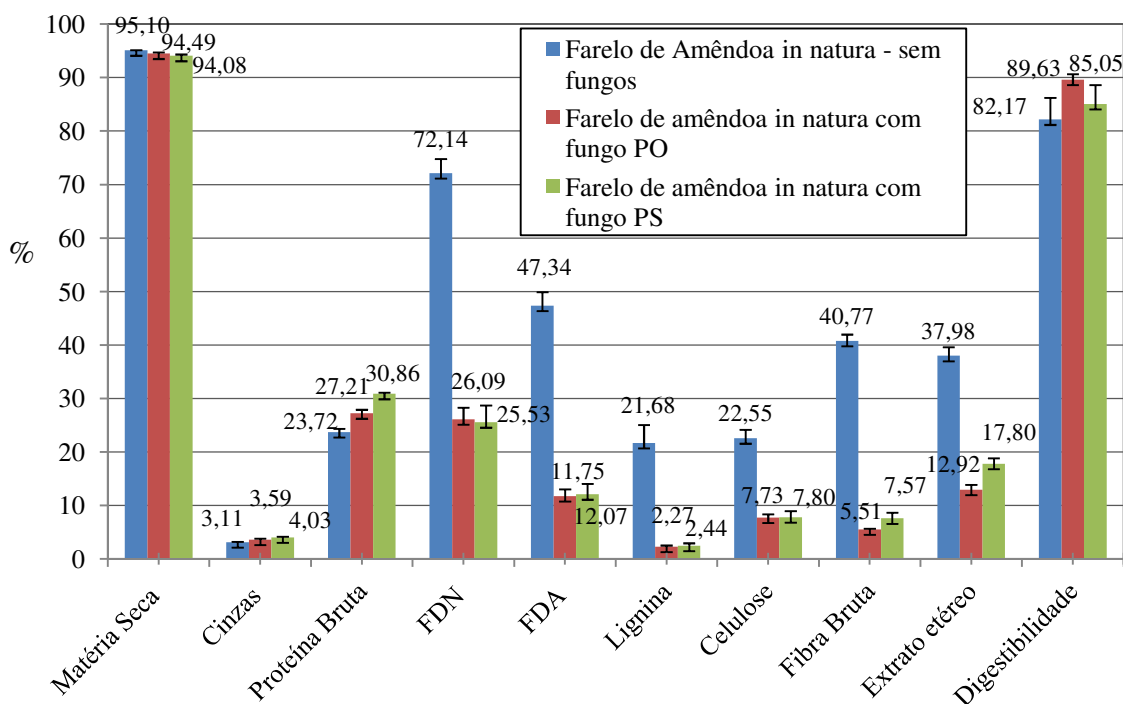


Figura 12 - Resultados dos parâmetros analisados para o farelo de amêndoa *in natura*: sem fungos e após inoculação com fungos: PO (*Pleurotus ostreatus*) e PS (*Pleurotus sajor-caju*).

5.6 ANÁLISE DE MINERAIS

Dos ensaios realizados com as amostras do resíduo da extração do óleo de macaúba, com e sem enriquecimento com fungos, obteve-se também informações dos elementos minerais presentes.

A Tabela 9 mostra os elementos minerais que foram determinados experimentalmente, bem como seus limites de quantificação, os parâmetros da curva analítica e o coeficiente de correlação.

Tabela 9 – Elementos minerais determinados, limite de quantificação, parâmetros da curva analítica – equação da curva analítica e coeficiente de correlação.

Elemento	L.Q. (µg/g)	Equação da Curva Analítica	R ²
Cu [*]	2,25	$A = 0,12466.C_{Cu} - 2,02.10^{-3}$	0,99986
Mn [*]	2,13	$A = 0,14299.C_{Mn} + 2,47.10^{-3}$	0,99975
Fe [*]	1,25	$A = 0,06593.C_{Fe} - 5,03.10^{-6}$	0,99949
Zn [*]	2,75	$A = 0,26264.C_{Zn} - 1,27.10^{-3}$	0,99924
Ca ^{**}	1,50	$A = 0,04548.C_{Ca} - 1,13.10^{-4}$	0,99979
Mg ^{**}	1,00	$A = 0,02089.C_{Mg} - 9,70.10^{-4}$	0,99953

*: Concentrações dos elementos em µg/g; **: Concentrações dos elementos em mg/g; L.Q. = Limite de Quantificação; A = Absorbância; C = Concentração do analito; R² = Coeficiente de correlação da regressão.

Para os elementos minerais analisados, o fator “tostagem”, mesmo apresentando diferença estatística significativa para alguns deles, em termos de valores nutritivos, acredita-se que as divergências encontradas podem não ser relevantes a ponto de dispende energia e tempo no processo de tostagem (Tabela 10).

As maiores concentrações para todas as amostras foram no teor de cálcio e magnésio e, as menores em cobre. Para o caso do elemento cálcio, que oscilou entre 1 e 2 mg/g e, levando-se em consideração os valores mencionados por Barbosa (2004), no balanceamento de dietas para vacas Angus com peso vivo de 533 kg e 8 kg de leite no pico de produção, a exigência nutricional de acordo com os meses de gestação das mesmas, é em torno de 20 a 30 g de cálcio por dia, que para este estudo significaria a ingestão pelo animal de 13 a 20 kg dos farelos obtidos.

Comparando-se o farelo de amêndoa *in natura* com os enriquecidos com fungos, também em relação ao elemento cálcio, pode-se verificar um ganho em torno de 8% para o caso em que foi utilizado o fungo PO e, 30% para o fungo PS. Isto leva diretamente a uma redução no consumo da quantidade de produto, por parte do animal, para atingir a quantidade de cálcio necessária por dia.

Para as fases de lactação é necessário incrementar a quantidade de ração oferecida ao animal em aproximadamente 20%, para atingir uma quantidade de cálcio entre 24 e 36 g por dia, de acordo com Barbosa (2004).

Tabela 10 – Teores de minerais: - farelos da polpa e amêndoa, *in natura* e tostados; - epicarpo; - farelo de amêndoa, *in natura* e tostado, enriquecidos com os fungos *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju*.

Amostras	Minerais					
	Cobre ($\mu\text{g/g}$)	Manganês ($\mu\text{g/g}$)	Ferro ($\mu\text{g/g}$)	Zinco ($\mu\text{g/g}$)	Cálcio (mg/g)	Magnésio (mg/g)
FP	3,54 \pm 0,01	3,69 \pm 0,10	8,57 \pm 0,67	5,05 \pm 0,04	1,14 \pm 0,05	1,22 \pm 0,02
FPT	3,57 \pm 0,03	3,50 \pm 0,07	14,64 \pm 0,09	6,31 \pm 0,70	1,41 \pm 0,06	1,59 \pm 0,06
FA	5,03 \pm 0,14	19,46 \pm 1,11	10,20 \pm 0,79	24,20 \pm 1,14	1,47 \pm 0,04	2,84 \pm 0,04
FAT	4,52 \pm 0,07	18,22 \pm 1,05	11,84 \pm 2,25	22,47 \pm 0,99	1,56 \pm 0,05	2,86 \pm 0,04
EP	< LQ	5,43 \pm 0,22	25,06 \pm 1,32	3,85 \pm 0,31	0,97 \pm 0,02	1,32 \pm 0,09
FAPO	4,44 \pm 0,14	18,08 \pm 0,95	10,86 \pm 0,22	25,06 \pm 0,65	1,59 \pm 0,07	3,08 \pm 0,21
FATPO	4,63 \pm 0,13	18,82 \pm 1,18	7,89 \pm 1,26	29,08 \pm 1,90	1,88 \pm 0,05	3,59 \pm 0,04
FAPS	5,19 \pm 0,16	21,22 \pm 0,52	7,95 \pm 0,09	29,33 \pm 0,05	1,91 \pm 0,13	2,95 \pm 0,07
FATPS	5,25 \pm 0,19	21,74 \pm 0,97	7,22 \pm 0,52	30,87 \pm 1,16	1,86 \pm 0,04	3,47 \pm 0,31

Dados apresentados como média dos valores \pm desvio padrão das determinações em triplicata; FP: farelo da polpa *in natura*; FPT: farelo da polpa tostada; FA: farelo de amêndoa *in natura*; FAT: farelo de amêndoa tostada; EP: epicarpo; FAPO: farelo de amêndoa *in natura* enriquecido com fungo *Pleurotus ostreatus*; FATPO: farelo de amêndoa tostada enriquecido com fungo *Pleurotus ostreatus*; FAPS: farelo de amêndoa *in natura* enriquecido com fungo *Pleurotus sajor-caju*; FATPS: farelo de amêndoa tostada enriquecido com fungo *Pleurotus sajor-caju*.

O farelo da polpa, tanto *in natura* como tostado, apresentou maior teor de magnésio, seguido de cálcio e depois ferro, este na ordem de grandeza $\mu\text{g/g}$. Já o farelo de amêndoa, *in natura* e tostado, e também as amostras deste farelo

enriquecidas com os fungos *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju*, tiveram o magnésio com maior concentração seguido do cálcio; após aparecem os microminerais zinco e manganês. Para o epicarpo, além dos macronutrientes magnésio e cálcio pode-se observar alto teor de ferro e níveis de cobre inferior ao detectado pelo equipamento.

Nas Figuras 13 e 14 pode-se evidenciar que, após o enriquecimento com fungos os elementos minerais presentes mantiveram suas proporções, em relação à caracterização inicial, superior para alguns elementos e muito similar para outros. Porém, com exceção do ferro e do magnésio, o fungo *Pleurotus sajor-caju* é o que mantém os maiores valores quando comparados com o fungo *Pleurotus ostreatus* e com a caracterização inicial.

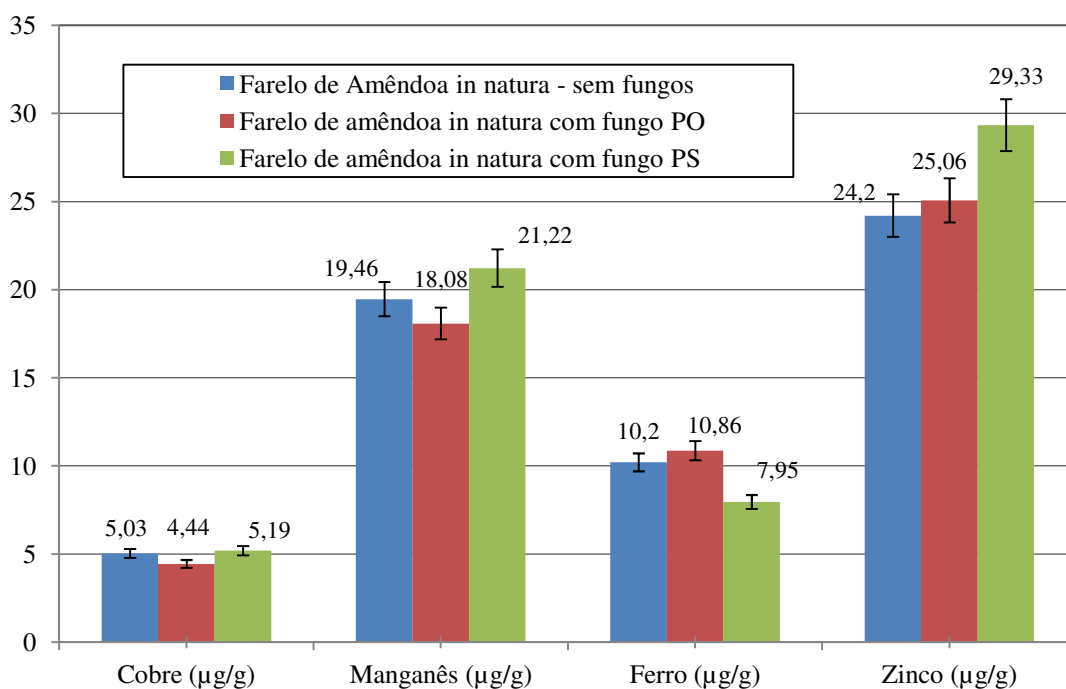


Figura 13 - Resultados dos microminerais, Cu, Mn, Fe e Zn presentes para o farelo de amêndoa *in natura*: sem fungos e após inoculação com os fungos PO (*Pleurotus ostreatus*) e PS (*Pleurotus sajor-caju*).

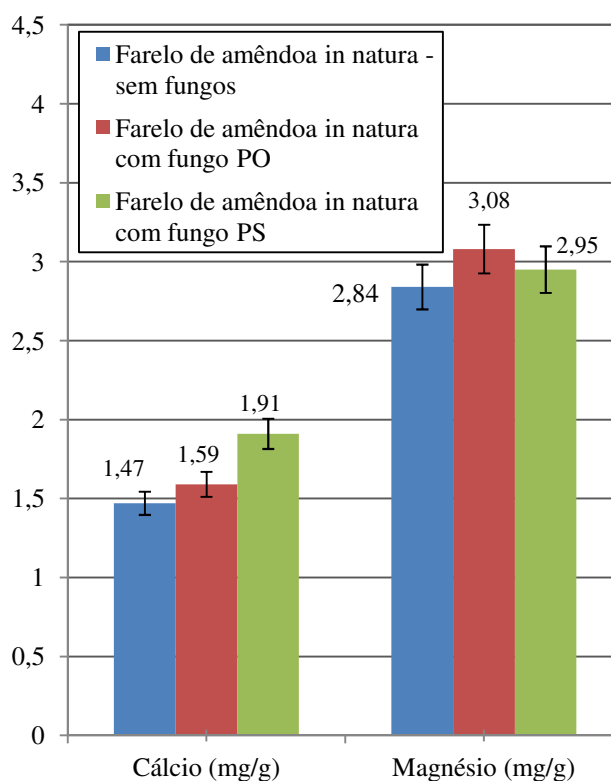


Figura 14 - Resultados dos macrominerais, Ca e Mg presentes para o farelo de amêndoa *in natura*: sem fungos e após inoculação com os fungos PO (*Pleurotus ostreatus*) e PS (*Pleurotus sajor-caju*).

Neste contexto, em relação aos minerais, é importante avaliar se a dieta consumida pelo animal está correspondendo as suas exigências, pois os alimentos mais comumente utilizados podem conter proporções desequilibradas, com deficiência ou excesso desses elementos, podendo ocasionar sérios distúrbios metabólicos. Nesses casos, o adequado balanceamento das rações vai apontar a necessidade de uma suplementação para compensar uma deficiência de minerais e, relacionar a absorção desses elementos com a qualidade do alimento consumido.

CAPÍTULO 6 – CONCLUSÕES E SUGESTÕES

A tostagem do farelo mostrou-se dispensável por apresentar valores muito próximos ao das amostras *in natura*. Mesmo que em alguns casos tenha apresentado significância estatística, os gastos dispendidos com energia, tempo, mão-de-obra e outros aspectos pertinentes ao processo de tostagem, não justificam este adicional, mesmo porque, nem sempre a diferença é positiva para as amostras tostadas comparadas as mesmas amostras *in natura*. Porém, outros testes de residuais químicos ou *in vivo* poderiam ser recomendados para assegurar a saúde do animal.

O farelo da amêndoa resultante da miceliação com fungos apresentou uma boa quantidade de proteínas e valores muito reduzidos, quando comparada à caracterização inicial, de FDN, lignina, celulose e extrato etéreo, o que o torna interessante do ponto de vista nutritivo, podendo ser sugerido sua incorporação à ração animal ou a mistura de outras farinhas como suplemento alimentar.

Das análises de minerais constatou-se que as maiores concentrações para todas as amostras foram no teor cálcio e magnésio e, as menores em cobre. Para o caso do elemento cálcio, em maior proporção nas amostras, após o enriquecimento com fungos, as amostras de farelo da amêndoa tiveram um ganho no percentual em torno de 8% para o caso em que foi utilizado o fungo PO e, 30% para o fungo PS. Isto leva diretamente a uma redução no consumo da quantidade de produto, por parte do animal, para atingir a quantidade de cálcio necessária por dia.

Dessa forma, o aproveitamento dos resíduos do processamento da macaúba, do ponto de vista da tecnologia limpa, questões socioambientais e econômicas, mostrou-se viável, visto que as avaliações desses resíduos indicaram o quão promissor é esse substrato no aproveitamento em produtos de dieta animal.

Essa atividade pode proporcionar um aumento de renda para a população, trazendo benefícios para a região, evitando o desperdício de um alimento de grande poder nutritivo, tanto na alimentação humana quanto animal e a possível

contaminação do meio ambiente em caso de descarte inadequado dos mesmos, bem como a conservação e manutenção dos recursos naturais.

Com mais estudos sobre as amostras avaliadas neste trabalho, será possível preparar também misturas de farelos e epicarpo que poderão ser usados como suplemento alimentar humano ou dosados em ração animal, aproveitando assim, as características particulares de cada resíduo e, colaborando para evitar o desperdício desses durante a cadeia produtiva.

Outros fungos também podem ser testados neste experimento, sempre atentando que sejam preferencialmente comestíveis, de forma a não desqualificar os produtos para utilização como nutrientes alimentícios.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, A. L.; SILVA FILHO, J. C. da; GODOI, A. R. de; ALMEIDA CARMO, C. de; EDUARDO, J. L. de P. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 258-260, 2008.

ALBORÉS, S.; PIANZZOLA, M. J.; SOUBES, M.; CERDEIRAS, M. P. Biodegradation of agroindustrial wastes by *Pleurotus* spp for its use as ruminant feed. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 3, p. 899-903, 2006.

Disponível em: <<http://www.ejbiotechnology.info/content/vol9/issue3/full/2/>>. Acesso em: 20 out. 2012.

AMARAL, F. P. **Estudo das características físico-químicas dos óleos da amêndoa e polpa da macaúba [*Acrocomia aculeata* (jacq.) Lodd. ex mart]**. 2007. 5f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Área de Concentração em Energia na Agricultura)- Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp, Botucatu, 2007. Disponível em:

<http://www.fca.unesp.br/pos_graduacao/Teses/PDFs/Arq0213.pdf>. Acesso em: 05 jul. 2013.

ANDRADE, M. H. C.; VIEIRA, A. S.; AGUIAR, H. F.; CHAVES, J. F. N.; NEVES, R. M. P. S.; MIRANDA, T. L. S.; SALUM, A. Óleo do fruto da palmeira macaúba – parte I: Uma aplicação potencial para indústrias de alimentos, fármacos e cosméticos. In: 3º SEMINÁRIO ABIQUIM DE TECNOLOGIA, II ENBTEQ ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE TECNOLOGIA NA INDÚSTRIA QUÍMICA E 7º SEMINÁRIO DE PRODUTORES DE OLEFINAS E AROMÁTICOS, I TECNIQ – SEMINÁRIO SOBRE TECNOLOGIA NA INDÚSTRIA QUÍMICA. **Anais eletrônicos**, 2004. Disponível em:

<<http://www.entabanbrasil.com.br/downloads/oleo-Macauba-II.PDF>>. Acesso em: 15 set. 2012.

ARISTONE, F.; LEME, F. M. **Farinha da polpa de macaúba, guia completo e livro de receitas**. 2006. 20f. Manual didático, Parte integrante de Projeto de Extensão. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS, Mato Grosso do Sul. 2006.

AZEVEDO FILHO, J. A. de; COLOMBO, C. A.; BERTON, L. H. C. Macaúba: palmeira nativa como opção bioenergética. **Pesquisa & Tecnologia – Apta Regional**, v. 9, n. 2, Jul-dez de 2012.

BARBOSA, F. A. **Alimentos na nutrição de bovinos**. 2004. Portal Agronomia. Disponível em: <http://www.agronomia.com.br/conteudo/artigos/artigos_nutricao_bovinos.htm>. Acesso em 26 set. 2013.

BARBOSA, N. G. S. **Torta de amêndoa de dendê: consumo, digestibilidade, metabolismo ruminal e desempenho leiteiro em bubalinos**. 2010. 176f. Tese (doutorado Escola de Veterinária, nutrição animal, zootecnia) – Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, Escola de Veterinária. Belo Horizonte – MG, 2010.

BARRETO, S. M. P. **Avaliação dos níveis de inclusão da torta de macaúba [AcrocomiaAculeata (Jacq.) Lodd. Ex Mart.] na alimentação de caprinos**. 2008. 102f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Montes Claros, MG, 2008.

BREENE, W. M. Nutritional and medicinal value of specialty mushrooms. **Journal of Food Protection**. v. 53, n. 10, p. 883-894, 1990.

BREYER, C. A.; PAZ, M. F.; GIOVANNI, R. N. Cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em bagaço de maçã pela técnica Jun-Cao. In: XVI Simpósio Nacional de Bioprocessos, 2007, Curitiba. **Anais SINAFERM**. Curitiba: Alvo Eventos, 2007. v. CD. p. FES0094.

CARGNIN, A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; FOGAÇA, C. M. Potencial da macaubeira como fonte de matéria-prima para produção de biodiesel. 2008. 16f. **EMBRAPA CERRADOS**. Planaltina, DF. Jun de 2008.

CARVALHO, K. J. de; SOUZA, A. L. de.; MACHADO, C. C. **Ecologia, manejo, silvicultura e tecnologia da macaúba**. 2011. 35f. Convênio de Cooperação Técnica SECTES/FAPEMIG, Pólo de Excelência em Florestas, Universidade Federal de Viçosa, nov de 2011. Disponível em: <http://www.ciflorestas.com.br/arquivos/d_b_b_15592.pdf>. Acesso em 07 jul. 2013.

CETEC - Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais. Programa Energia. **Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais**. Relatório final. Belo Horizonte, 1983. 2v.

CHO, S. S.; DREHER, M. L. **Handbook of dietary fiber**. New York: Marcel Dekker, 2001. p. 147-155.

COSTA, D. A. da. **Degradabilidade ruminal e parâmetros da fermentação em dietas contendo silagem de cana-de-açúcar e caroço de algodão**. 2010. 53f. Tese (Doutorado em Zootecnia)- Escola de veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Belo Horizonte, 2010.

DETMANN, E. *et al.* **Métodos para análise de alimentos**. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema, 2012. 214f.

DESPERDÍCIO de alimento é terceiro maior emissor de CO₂ do mundo. **O Progresso**, Dourados, 18 set. 2013. Meio ambiente, p. 8.

DHINGRA, D.; MICHAEL, M.; RAJPUT, H.; PATIL, R. T. Dietary fibre in foods: a review. **Journal Food Science and Technology**, v. 49, n. 3, p. 255-266, 2012.

DURIGAN, G.; MELO, A. C. G. de.; MAX, J. C. M.; VILAS BOAS, O.; CONTIERI, W. A.; RAMOS, V. S. Manual para recuperação da vegetação de cerrado. São Paulo, 2011, 19f. 3.ed.rev. e atual. Disponível em: <<http://www.ambiente.sp.gov.br/mataciliar>>. Acesso em 13 nov. 2012.

GIRALDI, R. Desperdício de alimentos causa prejuízos anuais de US\$750 bi. **O Progresso**, Dourados, 12 set. 2013. Mundo, p. 6.

GOES, R. H. de T. e B. de; TRAMONTINI, R. de C. M.; ALMEIDA, G. D. de; CARDIM, S. T.; RIBEIRO, J.; OLIVEIRA, L. A. de; MOROTTI, F.; BRABES, K. C. da S.; OLIVEIRA, E. R. de. Degradabilidade ruminal da matéria seca e proteína bruta de diferentes subprodutos agroindustriais utilizados na alimentação de bovinos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 4, p. 715-725, 2008.

GONÇALVES, L. C.(org.); FERREIRA, D. A.; CARVALHO, W. T. V.; FERREIRA, P. D. S. (org.); RAMIREZ, M. A. Qualidade de ingredientes para alimentação de bovinos. In: BORGES, Iran (org.); **Alimentos para gado de leite**. Belo Horizonte: Editora FEPMVZ, 2009. cap. 30, p. 545-568.

GRAINGER, C. Chewing the fat for less gas. **Greenhouse in Agriculture**, n. 11, out. 2008. Disponível em: <<http://www.greenhouse.unimelb.edu.au/gia.htm>>. Acesso em 07 maio 2013.

Instituto Adolfo Lutz, Métodos físico-químicos para análise de alimentos – 4ª Edição – 1ª Edição Digital. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository&Itemid=0&func=startdown&id=5>. Acesso em 08 jun. 2012.

LEITE, E. R. **Sistema de produção de caprinos e ovinos de corte para o Nordeste Brasileiro**. 2005. Embrapa Caprinos. Sistemas de Produção, 1. ISSN 1809-1822. Versão Eletrônica Dez/2005. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/CaprinoseOvinosdeCorte/CaprinoseOvinosCorteNEBrasil/autores.htm#autores>>. Acesso em 26 set. 2013.

LORENZI, G. M. A. C., NEGRELLE, R. R. B. **Acrocomia aculeata (JACQ.) LODD. EX MART.: aspectos ecológicos, usos e potencialidades**. 2006. Artigo científico. Universidade Federal do Paraná, UFPR. Disponível em: <http://www.entabanbrasil.com.br/downloads/Macauba_Aspectos-Ecologicos_Revisao_UFPR.pdf>. Acesso em 05 jun. 2012.

McDOUGALL, G. J.; MORRISON, I. M.; STEWART, D. Plant fiber: botany, chemistry and processing for industrial use. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 62, n. 1, p. 1-20, 1993.

MACEDO JUNIOR, G. de L.; ZANINE, A. de M.; BORGES, I.; PEREZ, J. R. O. Qualidade da fibra para a dieta de ruminantes. **Ciência Animal**, v. 17, n. 1, p. 07-17, 2007.

MACHADO, C. A. C.; ARGANDONA, E. J. S.; HOMEM, G. R.; TOMMASSELLI, M. A. G. Modelo de viabilização da produção do consórcio: Macaúba (*Acrocomia aculeata*) e Cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*). In: 10º ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO – **Anais ENEGEP**, out de 2010, São Carlos, SP, Brasil, 2010.

MAROUELLI, R. P. **O desenvolvimento sustentável da agricultura no cerrado brasileiro**. 2003. 54f. Monografia (Especialização, MBA em Gestão Sustentável da Agricultura Irrigada, com área de concentração em Planejamento Estratégico.) - ISEA – FGV Ecobusiness School, Fundação Getúlio Vargas, Distrito Federal, Brasília, 2003.

MENEZES de SA, H. C. **Subprodutos do processamento industrial do babaçu para ovinos**. 2011. 132f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal) - Escola de veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Belo Horizonte, 2011. Disponível em: <<http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/1843/BUOS-QGHRG/1/dissertacaofinal.pdf>>. Acesso em 31 mai. 2012.

MERTENS, D. R. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 80, p. 1463-1481, 1997.

MORAES, S. A. de. **Subprodutos da agroindústria e indicadores externos de digestibilidade aparente em caprinos**. 2007. 57f. Tese (Doutorado em Nutrição Animal)- Escola de veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Belo Horizonte, 2007. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/1843/VETC-7AQPPI/1/tese_salette_alves_de_moraes.pdf>. Acesso em 31 maio 2012.

MOREIRA, J. M. M. A. P.; SOUSA, T. C. R. de. Macaúba: oportunidades e desafios. Planaltina, DF: **EMBRAPA CERRADOS**, 2009. Disponível em: <<http://www.cpac.embrapa.br/noticias/artigosmidia/publicados/163/>>. Acesso em 18 jan. 2013.

OBODAI, M.; CLELAND-OKINE, J.; VOWOTOR, K. A. Comparative study on the growth and yield of *Pleurotus ostreatus* mushroom on different lignocellulosic by-products. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 30, p. 146–149, 2003.

PAZ, M. F.; DEMENJOURI, P. L.M. M.; CARDOSO, J. C. P.; LEITE, R. S. R. Cultivation of edible mushroom Hiboukitake in caja bagasse by in Jun-Cao technique. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. 2, p. 146-152, 2013.

PAZ, M. F.; BREYER, C. A.; LONGHI, R. F.; OVIEDO, M. S. V. P. Determining the basic composition and total phenolic compounds of *Pleurotus sajor-caju* cultivated in three different substrates by solid state bioprocess. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 2, p. 11-14, 2012.

PREVEDELLO, J. A; CARVALHO, C. J. B. de. Conservação do Cerrado brasileiro: o método pan-biogeográfico como ferramenta para a seleção de áreas prioritárias. **Natureza e Conservação**, v. 4, n. 1, p. 39-57, 2006.

RAJARATHNAM, S., BANO, Z. *Pleurotus* mushrooms. Part I. Morphology, life cycle, taxonomy, breeding and cultivation. **CRC Critical Review of Food Science and Nutrition**, v. 26, n. 2, p. 157-223, 1987.

RAMOS, G. de L. **Palmáceas alternativas para incremento da produção de biodiesel**. 2010. 145f. Dissertação (Mestrado em Agronegócios) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, DF, 2010.

RODRIGUES, R.C. Métodos de análises bromatológicas de alimentos: métodos físicos, químicos e bromatológicos. **EMBRAPA CLIMA TEMPERADO**. Pelotas/RS, ISSN 1516-8840. Documentos, 306, 177f., 2010.

RUFINO, L. M. de A.; BARRETO, S. M. P.; DUARTE, E. R.; GERASEEV, L. C.; SANTOS, A. C. R.; JARUCHE, Y. G. Efeitos da inclusão de torta de macaúba sobre a população de protozoários ruminais de caprinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 4, p. 899-903, 2011.

SALMAN, A. K. D.; FERREIRA, A. C. D.; SOARES, J. P. G.; SOUZA, J. P. de. Metodologias para avaliação de alimentos para ruminantes domésticos. 2010. 26f. **EMBRAPA**. Porto Velho, RO. 2010.

SÁNCHEZ, A.; YSUNZA, F.; BELTRÁN-GARCÍA, M. J.; ESQUEDA, M. Biodegradation of viticulture wastes by *Pleurotus*: a source of microbial and human food and its potential use in animal feeding. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 50, p. 2537-2542, 2002.

SÁNCHEZ, C. Modern aspects of mushroom culture technology. **Applied Microbiology and Biotechnology** - DOI 10.1007/s00253-004-1569-7, n. 64, p. 756-762, 2004.

SIGNORETTI, R. D. Qualidade do leite: interpretação dos resultados de sólidos totais. **Scot Consultoria**, 27 dez. 2011. Disponível em: <<http://www.scotconsultoria.com.br/noticias/artigos/22150/qualidade-do-leite-interpretacao-dos-resultados-de-solidos-totais.htm>>. Acesso em 09 maio 2013.

SILVA, D. B. da; SILVA, J. A. da; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M. de. Frutas do Cerrado. Brasília: **EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA**, 179f., 2001.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: Métodos químicos e biológicos**. 3. Ed. Viçosa: UFV, 235f., 2002.

SILVA, I. C. C. da. **Uso de processos combinados para o aumento do rendimento da extração e da qualidade do óleo de macaúba**. 2009. 99f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) –Escola de Química - Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, Rio de Janeiro, 2009.

SILVA, M. A. da. **Biodegradação dos resíduos agrícolas: rumo a sustentabilidade em poção da Ribeira-Itabaiana-Sergipe**. 2003. 115f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, 2003.

SILVA, N. D.; SILVA JUNIOR, A. G. da; PEREZ, R.; ÁVILA, M. B. R.de. **Avaliação da produção agrícola da macaúba**. 2008. Artigo Científico–Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. Disponível em: <<http://www.bioenergiaufv.com.br/conteudo.php?id=16>>. Acesso em 15 jun. 2012.

SOBREIRA, H. F. **Resíduos do coco da macaúba em substituição parcial ao milho e farelo de soja em rações para vacas mestiças lactantes**. 2011. 27f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, MG, 2011.

SOUZA FILHO, A. de. **Dinâmica da fermentação ruminal da semente de maracujá (*Passiflora edulis*) em ovinos**. 1995. 107f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1995.

VILLAS-BÔAS, S. G.; ESPOSITO, E. Bioconversão do bagaço de maçã: enriquecimento nutricional utilizando fungos para produção de um alimento alternativo de alto valor agregado. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Florianópolis, SC, Ano III, n. 14, p. 38-42, maio/jun. 2000.
Disponível em: <<http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio14/bioconversao.pdf>>. Acesso em 03 out. 2012.

VILLAS-BÔAS, S. G.; ESPOSITO, E.; MENDONÇA, M. M. de. Bioconversion of apple pomace into a nutritionally enriched substrate by *Candida utilis* and *Pleurotus ostreatus*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, n. 19, p. 461-467, 2003.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminants**. 2.ed. Ithaca: Cornell University, 1994, 476f. Disponível em:
<http://books.google.com.br/books/about/Nutritional_Ecology_of_the_Ruminant.html?id=-mwUu6PL1UgC&redir_esc=y>. Acesso em 18 mar. 2013.

VAN SOEST, P. J.; WINE, R. H. Development of a lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 51, p. 780-785, 1968.