

INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

FERMENTAÇÃO DE RESÍDUOS SÓLIDOS (BAGAÇO)
PROVENIENTES DA PRODUÇÃO DE SUCO DE *Anacardium*
othonianum Rizz. (CAJU-DE-ÁRVORE-DO-CERRADO)
UTILIZANDO O FUNGO *Rhizopus oligosporus*

Autora: Thayanara Mayara de Lima
Orientadora: Dra. Mariana Buranelo Egea
Coorientador: Dr. Fabiano Guimarães Silva

Rio verde - GO
Fevereiro – 2019

INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

FERMENTAÇÃO DE RESÍDUOS SÓLIDOS (BAGAÇO)
PROVENIENTES DA PRODUÇÃO DE SUCO DE *Anacardium*
othonianum Rizz. (CAJU-DE-ÁRVORE-DO-CERRADO)
UTILIZANDO O FUNGO *Rhizopus oligosporus*

Autora: Thayanara Mayara de Lima
Orientadora: Dra. Mariana Buranelo Egea
Coorientador: Dr. Fabiano Guimarães Silva

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM AGROQUÍMICA, no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – Área de concentração Agroquímica.

Rio Verde - GO
Fevereiro – 2019

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

L732f

de Lima, Thayanara Mayara Fermentação de resíduos sólidos (bagaço) provenientes da produção de suco de Anacardium othonianum Rizz. (caju-de-árvore-do-cerrado) utilizando o fungo Rhizopus oligosporus / Thayanara Mayara de Lima; orientadora Mariana Buranelo Egea; coorientador Fabiano Guimarães Silva. -- Rio Verde, 2019. 40 p.

Dissertação (Mestrado em Agroquímica) -- Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2019.

1. Alimento funcional . 2. Enriquecimento proteico. 3. Farinha. I. Egea, Mariana Buranelo, orient. II. Silva, Fabiano Guimarães, co-orient. III. Título.

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

**FERMENTAÇÃO DE RESÍDUOS SÓLIDOS (BAGAÇO)
PROVENIENTES DA PRODUÇÃO DE SUCO DE
Anacardium othonianum RIZZ. (CAJU-DE-ÁRVORE-DO-
CERRADO) UTILIZANDO O FUNGO *Rhizopus*
*oligosporus***

Autora: Thayanara Mayara de Lima
Orientadora: Mariana Buranelo Egea

TITULAÇÃO: Mestre em Agroquímica – Área de concentração
Agroquímica.

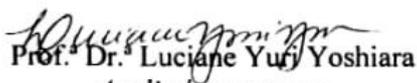
APROVADA em 28 de fevereiro de 2019.



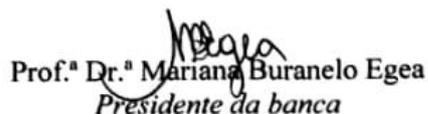
Prof. Dr. Ailton César Lemes
Avaliador externo
IF Goiano/Morrinhos



Prof.^a Dr.^a Priscila Alonso dos Santos
Avaliadora externa
IF Goiano/RV



Prof.^a Dr.^a Luciane Yuri Yoshiara
Avaliadora externa
UFMT



Prof.^a Dr.^a Mariana Buranelo Egea
Presidente da banca
IF Goiano/RV

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me conceder a vida, sabedoria e por me manter sã e confiante durante cada momento difícil ao longo destes dois anos.

À minha mãe, Lindinalva, que sempre me apoiou e incentivou em cada nova etapa que iniciei, que sempre acreditou em mim mais do que eu mesma, todos os frutos que eu colher são e serão dedicados a ela. A todos da minha família, que foram a base para a construção de tudo que sou e me deram todo apoio necessário.

Serei eternamente grata a minha orientadora, Mariana Egea, por todo conhecimento e experiências que a mim foram passados, pela dedicação em me orientar e ensinar com amor. Tenho além de tudo, uma amiga e conselheira de vida.

À Adrielle Borges, que dividiu comigo os melhores anos da minha vida, juntas alcançamos muitas vitórias e nos consolamos nas dificuldades, com apoio incondicional em todas as etapas de desenvolvimento deste trabalho, meus dias foram melhores com ela, minha pessoa!

Minha amiga, Daiane Peres, que me ajudou do início ao fim, em tudo que precisei, em qualquer horário, dia ou lugar, palavras não são suficientes para agradecer toda dedicação que recebi, a recíproca é verdadeira.

Em especial, a pessoas que dividiram comigo momentos importantes: Ariadne, Silvelly, Railany, Daiane Santos, Daniele, Raquel, Larissa, Tainara, Jeisa, Vicente, Murilo, Josemar, Renan, Wendel, Jéssica e Aline.

Aos integrantes do LaBBio, minha casa no IF Goiano, onde compartilhei com meus companheiros do dia a dia várias experiências inesquecíveis que levarei para toda minha vida. A equipe dos laboratórios de Bromatologia e Físico-Química, que foi minha segunda casa e sempre estive de portas abertas para me receber. Aos laboratórios de Biotecnologia, Química Geral, Fitopatologia e Central Analítica.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Thayanara Mayara de Lima, natural de Parnamirim – Rio Grande do Norte, filha de Maria Lindinalva de Lima, nasceu em 15 de março de 1996. Em 2017, concluiu a graduação em Engenharia de Alimentos no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde. Atuou, durante a graduação, como monitora de ensino de física, e posteriormente como estagiária em estabelecimento de manipulação de produtos de panificação. Em 2017, na mesma instituição, iniciou o mestrado em Agroquímica, trabalhando com aproveitamento de resíduo agroindustrial para produção de farinha com potencial funcional, no ano seguinte iniciou um curso de formação técnica em Segurança do Trabalho.

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	10
1.2. Referências bibliográficas.....	12
2. OBJETIVOS.....	15
2.1. Geral.....	15
2.2. Específicos.....	15
CAPÍTULO I.....	16
1. Introdução.....	17
2. Material e métodos.....	18
2.1. Preparo da amostra.....	18
2.2. Fermentação em estado sólido.....	18
2.3. Análises químicas.....	20
2.4. Obtenção do resíduo fermentado seco.....	22
2.4.1. Condições de secagem.....	22
2.4.2. Avaliações tecnológicas da farinha.....	23
2.5. Estatística.....	24
3. Resultados e discussão.....	24
3.1. Caracterização do substrato.....	24
3.2. Otimização de tempo e temperatura de fermentação e concentração de inóculo.....	26
3.3. Caracterização de farinha com potencial funcional.....	30
4. Conclusões.....	36
5. Agradecimentos.....	36
6. Referências.....	36

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Variáveis decodificadas e codificadas do planejamento experimental fatorial 2 ³ dos ensaios fermentativos utilizando <i>R. oligosporus</i>	19
Tabela 2. Caracterização do substrato sólido de <i>A. othonianum</i> Rizz.....	24
Tabela 3. Atividade antioxidante pelos métodos DPPH e FRAP, proteína bruta (PB) e digestibilidade proteica <i>in vitro</i> (DPI) para bagaço de caju-de-árvore-do-cerrado fermentado sob diferentes condições de temperatura (T), concentração de esporos (CE) e tempo de fermentação (TF).....	26
Tabela 4. T4 com valores preditos, experimentais e desvios para as variáveis dependentes do planejamento experimental.....	30
Tabela 5. Caracterização química (base seca) de farinhas com potencial funcional submetidas a diferentes temperaturas de secagem	31
Tabela 6. Propriedades tecnológicas e colorimétricas de resíduo sólido fermentado seco em temperaturas distintas.....	35

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Caju-de-árvore-do-cerrado (<i>A. othonianum</i> Rizz.).....	12
Figura 2. Esporos de <i>R. oligosporus</i> observados em microscópio eletrônico (40x).....	19
Figura 3. Diagrama de Pareto para as variáveis dependentes DPPH (A), FRAP (B) e Teor de Proteína Bruta (C) do resíduo sólido fermentado.....	27
Figura 4. Validação do processo fermentativo através da ferramenta desejabilidade.....	29
Figura 5. Curva de secagem convectiva em estufa com temperaturas de 40, 50, 60 e 70°C.....	31
Figura 6. Atividade antioxidante pelos métodos DDPH (Fig. 6a) e FRAP (Fig 6b) do substrato (T0), produto fermentado (T4) e das farinhas secas em temperaturas distintas.....	33
Figura 7. Espectros obtidos por Infravermelho das farinhas T40, T50, T60 e T70.....	34

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

%	Porcentagem
°Brix	Graus Brix
°C	Graus Celsius
μ	Micro
a*	Coordenada de cor instrumental
b*	Coordenada de cor instrumental
C*	Chroma
G	Gramas
GRAS	Generally Regarded as Safe
H	Horas
h _{ab}	Ângulo hue
IOC	Instituto Oswaldo Cruz
Kcal	Quilocalorias
L*	Luminosidade
log	Logarítmo
M	Molar
mg	Miligramas
mL	Mililitros
PGA	Potato Glucose Agar
pH	Potencial hidrogeniônico
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
rpm	Rotações por minuto

RESUMO

LIMA, THAYANARA MAYARA DE. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde - GO, fevereiro de 2019. **Fermentação de resíduos sólidos (bagaço) provenientes da produção de suco de *Anacardium othonianum* Rizz. (caju-de-árvore-do-cerrado) utilizando o fungo *Rhizopus oligosporus*.** Orientadora: Dra. Mariana Buranelo Egea. Coorientador: Dr. Fabiano Guimarães Silva.

A fermentação, particularmente em estado sólido, é um processo biotecnológico usado como método alternativo de aproveitamento de resíduos para melhorar as funcionalidades dos mais variados tipos de subprodutos agrícolas. Além disso, há relatos de que quando realizado em frutas resulta na geração de produtos com maior valor agregado. Os fungos filamentosos são micro-organismos que se multiplicam melhor e produzem grande quantidade de hidrolases extracelulares quando em substratos sólidos, sendo que o *Rhizopus oligosporus* tem características favoráveis para esse tipo de fermentação. No presente trabalho, o *R. oligosporus* foi utilizado para fermentar o resíduo sólido proveniente da produção de suco de caju-de-árvore-do-cerrado. Foram avaliadas as melhores condições para o processo fermentativo através de experimento fatorial, mediante avaliação dos parâmetros de temperatura, concentração de esporos e tempo. Posteriormente, o tratamento seguiu para a etapa de secagem em quatro temperaturas, seguidas de trituração e peneiramento para padronização como farinha. A associação desse micro-organismo com o uso do resíduo sólido como substrato, que possui características básicas favoráveis para multiplicação do fungo, proporciona não apenas valor agregado ao subproduto, o qual inicialmente seria descartado pela agroindústria, como também a obtenção de um fermentado com maior qualidade nutricional, tendo em vista que o teor proteico é elevado, podendo ser utilizado para inúmeras aplicações na indústria alimentícia.

PALAVRAS-CHAVE: alimento funcional, enriquecimento proteico, farinha

ABSTRACT

LIMA, THAYANARA MAYARA DE. Goiano Federal Institute – Campus Rio Verde - GO, february 2019. **Fermentation of solid waste (bagasse) from juice production of *Anacardium othonianum* Rizz. (cerrado-tree cashew) using the fungus *Rhizopus oligosporus*.** Advisor: Dr. Mariana Buranelo Egea. Co-advisor: Dr. Fabiano Guimarães Silva.

Fermentation, particularly in the solid state, is a biotechnological process used as an alternative method of waste utilization to improve the functionalities of the most varied types of agricultural by-products. In addition, there are reports that when carried out on fruits results in products generation with higher benefit. Filamentous fungi are microorganisms that multiply better and produce large amounts of extracellular hydrolases when in solid substrates, and *Rhizopus oligosporus* has favorable characteristics for this fermentation type. In the present work, *R. oligosporus* was used to ferment the solid residue from cashew nut juice production. The best conditions for the fermentation process were evaluated through a factorial experiment, by means of temperature, spore concentration and time parameters. Subsequently, the treatment followed the drying step in four temperatures, followed by grinding and sieving to standardize as flour. The association of this microorganism with solid residue use as a substrate, which has favorable basic characteristics for fungus multiplication, not only provides a benefit to the by-product that would be initially discarded by the agroindustry, but also to obtain a fermented product with higher nutritional quality. The product has high protein content and can be used for numerous applications in food industry.

KEYWORDS: functional food, protein enrichment, flour

1. INTRODUÇÃO

A fermentação é a conversão de uma fonte nutritiva, geralmente açúcares, mediada por micro-organismos, que geram produtos orgânicos mais simples (Scott & Sullivan, 2008). O processo fermentativo, origina alterações químicas, biológicas e enzimáticas nos alimentos, sendo estas responsáveis por aumentar a digestibilidade e o valor nutricional, ocasionadas por ação direta do micro-organismo envolvido no processo ou por algum produto que o mesmo desenvolve (Cruz, 2014).

Em processos fermentativos utilizando fungos é observado decréscimo de compostos tóxicos e aumento de compostos com capacidade de controle de população de micro-organismos patogênicos, gerando maior valor nutricional e potencial enquanto alimento funcional (Hutkins, 2006). A fermentação também altera as características sensoriais dos produtos, tornando-os mais agradáveis ao consumidor, por tal razão, esse bioprocessos é comumente introduzido visando a obtenção de alimentos com novas características de consumo (Ross et al., 2002).

Os fungos filamentosos são micro-organismos que produzem grande quantidade de hidrolases extracelulares quando em substratos sólidos comparado com cultura submersa ou líquida (Spencer-Martins & Sá-Nogueira, 2003). *Rhizopus oligosporus* é um micro-organismo eucarionte que depende exclusivamente do carbono orgânico como fonte de energia, e, quando se encontra em ambiente seco, há a produção de esporos resistentes. A temperatura ótima de crescimento está entre 28 e 30°C e o pH ótimo de crescimento é próximo de 5 (Pampulha & Oliveira, 2009).

Fermentação com *R. oligosporus*, já apresentou aumento no teor de aminoácidos, minerais e digestibilidade proteica, produtos torrados desenvolvidos a partir de fermentado de trigo sarraceno também obtiveram boa aceitação em teste sensorial (Wronkowska et al., 2015), incentivando a prática da fermentação utilizando este fungo

para melhorar a qualidade nutricional do substrato utilizado no bioprocesso. Outros experimentos utilizando este fungo mostram que com o seu uso é possível obter alimentos com alto teor de proteína e atividade antioxidante, baixo nível de gordura e livres de toxinas (Nout e Kiers, 2005; Chang et al., 2009).

Entre as características fermentativas interessantes desse fungo, podem ser citadas como: rápido crescimento do micélio, eficiente germinação de esporangiósporos, produção de compostos com elevado poder antioxidante, elevadas atividades proteolíticas, capacidade de crescer em substratos diferentes sem produzir elevadas quantidades de ácidos orgânicos que venham tornar o produto final ácido e síntese de enzimas que hidrolisam os constituintes (Kuswanto, 2005).

Economicamente, também há grande benefício, já que o uso da fermentação em estado sólido pode ser destinado para aproveitamento de resíduos, produção de enzimas, inibição de bactérias gram-positivas e produção de alimentos, como o tempeh, um produto obtido através da fermentação controlada de grãos de soja e muito consumido na culinária japonesa (Tavares et al., 2002; Yamada et al., 2005; Ozsoy et al., 2008).

O Brasil possui alta geração de resíduos agroindustriais, dentre eles farelos, cascas, bagaços e outros que são viáveis para a biotransformação através da fermentação em estado sólido, a estrutura desses materiais tem como seus principais componentes celulose, hemicelulose, lignina, amido, pectina e proteínas, o que os torna extremamente heterogêneo, e possuem utilidade tanto como fonte de carbono e energia quanto de suporte para o crescimento microbiano (Pandey, 2003).

O caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) (Figura 1) faz parte da família *Anacardiceae*, cuja espécie é típica do Cerrado e possui porte arbóreo com 3-4 metros de altura. Seu fruto verdadeiro é a castanha, comumente consumida torrada, apresenta alto teor de óleo, o pseudofruto (pedúnculo) é a parte carnosa, geralmente consumido *in natura*, ou para preparo de suco, licor, doce e infusões em aguardente. Quando maduros, os pseudofrutos apresentam coloração de amarelo a vermelho, dimensões de 2 a 4 cm de comprimento, 2 a 3 cm de diâmetro e peso entre 5 e 12 g (Silva et al., 1994).



Figura 1. Caju-de-árvore-do-cerrado (*A. othonianum* Rizz.)
Fonte: o autor, 2018.

O processamento de suco gera em torno de 40% de resíduos, sendo constituídos principalmente por sementes e bagaço, a transformação destes em farinha vem sendo uma alternativa contra o descarte inadequado e a inerente busca pelo aproveitamento dos frutos em sua totalidade. Nos produtos de panificação há grande variedade de aplicações para estas farinhas, já que o mercado, atualmente, vem buscando sempre o enriquecimento nutricional através da adição ou substituição parcial por novos ingredientes (Marques, 2013).

A aplicação de um micro-organismo que já é utilizado e com características conhecidas de processos fermentativos em meio sólido, facilita a escolha e a determinação de um substrato, assim como a adequação e o controle das características ótimas. A associação desse micro-organismo com o resíduo sólido de *A. othonianum* Rizz. como substrato, demonstra características básicas favoráveis para multiplicação do fungo, proporcionando não apenas um valor agregado ao subproduto, que inicialmente seria descartado pela agroindústria, como também a obtenção de um fermentado com maior qualidade nutricional, em termos de teor proteico.

1.2. Referências Bibliográficas

Chang, C.T., Hsu, C.K., Chou, S.T., Chen, Y. C., Huang, F. S., Chung, Y. C. Effect of fermentation time on the antioxidant activities of tempeh prepared from fermented soybean using *Rhizopus oligosporus*. (2009). *International Journal Food Science. Technology*, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01907.x>.

Cruz, I. L. Desenvolvimento de um inóculo seguro, eficiente e padronizado para a produção de tempeh em pequena escala a partir de diferentes leguminosas. (2014). Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.

Kuswanto, K. R. (2005). Industrialization of Tempeh Fermentation. In: Steinkraus, K. H., Industrialization of Indigenous Fermented Food. Marcel (pp.587–635). Dekker Inc. New York.

Marques, T. R. Aproveitamento tecnológico de resíduos de acerola: farinhas e barras de cereais. (2013). Universidade Federal de Lavras. Lavras/MG, (Mestrado em Agroquímica).

Nout, M.J.R., Kiers, J.L. Tempe fermentation, innovation and functionality: update into the third millenium. (2005). *Journal of Applied Microbiology*, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02471.x>.

Ozsoy, H.D., Kumbur, H., Saha, B., van Leeuwen, J.H. Use of *Rhizopus oligosporus* produced from food processing wastewater as a biosorbent for Cu(II) ions removal from the aqueous solutions. (2008). *Bioresource Technology*, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.017>.

Pampulha, M. E., Oliveira, A. Microbiologia. (2009). Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa.

Pandey, A. Solid state fermentation. (2003). *Biochemical Engineering Journal*, 13(2/3), 81-84.

Scott, R., Sullivan, W. C. Ecology of fermented foods. (2008). *Human Ecology Review*, 15(1), 25-31.

Silva, J. A., Silva, D. B., Junqueira, N. T., Andrade, L. R. M. (1994). *Frutas nativas dos cerrados*. Brasília: EMBRAPA / CPAC.

Spencer-Martins, I., Sá-Nogueira, I. Aplicações da Biotecnologia – Biotecnologia Microbiana. (2003). Edições Técnicas. 249-265.

Tavares, S. G., Kiyam, C. Avaliação da qualidade nutricional da proteína da farinha de tempeh, produto fermentado, obtido a partir da soja. (2002). *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 13(1), 23–33.

Wronkowska, M., Christa, K., Ciska, E., Soral-S´Mietana, M. (2015) Chemical characteristics and sensory evaluation of Raw and roasted buckwheat groats fermented by *Rhizopus oligosporus*. *Journal of Food Quality*, <https://doi.org/10.1111/jfq.12127>

Yamada, O., Sakamoto, K., Tominaga, M., Nakayama, T., Koseki, T., Fujita, A., Akita, O. Cloning and heterologous expression of the antibiotic peptide (ABP) genes from *Rhizopus oligosporus* NBRC 8631. (2005). *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 69(3), 477–482.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

O objetivo da pesquisa foi realizar a fermentação de resíduos sólidos (bagaço) provenientes da produção de suco de *Anacardium othonianum* Rizz. (caju-de-árvore-do-cerrado) utilizando o fungo *Rhizopus oligosporus*.

2.2. Específicos

- Determinar a composição química em macro, micronutrientes e compostos bioativos do resíduo sólido proveniente da extração do suco de *A. othonianum* Rizz.;
- Determinar as condições mais adequadas de temperatura, tempo e concentração de micro-organismo do processo fermentativo em estado sólido, utilizando *R. oligosporus*, para produção de ingrediente com alto valor proteico, digestibilidade proteica e atividade antioxidante;
- Obter e caracterizar, quanto as propriedades tecnológicas, o substrato fermentado seco como potencial ingrediente para a indústria de alimentos;

CAPÍTULO I

Fermentação de resíduos sólidos (bagaço) provenientes da produção de suco de *Anacardium othonianum* Rizz. (caju-de-árvore-do-cerrado) utilizando o fungo *Rhizopus oligosporus*

(Normas de acordo com a revista Food and Bioprocess Technology)

Resumo

O processamento de suco gera grande quantidade de resíduos, que são descartados ou utilizados como adubo. Assim, a fermentação em estado sólido é uma alternativa para aproveitamento e produção de um alimento com propriedades nutritivas e funcionais melhoradas. Neste estudo, o fungo *Rhizopus oligosporus* foi utilizado para fermentar bagaço de caju-de-árvore-do-cerrado, variando as condições de temperatura, concentração de esporos e tempo, através de um delineamento fatorial para definir a modelagem matemática e. A otimização foi realizada utilizando a ferramenta desejabilidade para as variáveis atividade antioxidante, proteína bruta e digestibilidade proteica *in vitro*. O tratamento otimizado da fermentação se deu sob as condições de temperatura de 28°C, concentração de 10⁸ de esporos por mL de suspensão e tempo de 32 horas, o produto obtido foi submetido a secagem convectiva nas temperaturas de 40, 50, 60 e 70°C, triturado e peneirado para padronização como farinha, sendo estas avaliadas quanto as propriedades tecnológicas e funcionais. Foi obtido aumento do teor proteico, atividade antioxidante e digestibilidade proteica após a fermentação. A farinha

seca a 70°C se mostrou ideal, já que a mesma demanda menor tempo de secagem, possui alto teor proteico (14,99 g 100g⁻¹), baixo teor lipídico (1,95 g 100g⁻¹) e apresenta atividade antioxidante, mostrando-se como potencial ingrediente para aplicação em produtos da indústria alimentícia ou inserção direta em dietas.

Palavras-chave: alimento funcional, enriquecimento proteico, farinha.

Abstract

Juice processing generates a large amount of waste, which is discarded or used as fertilizer. Thus, solid-state fermentation is an alternative for utilization and production of a food with improved nutritional and functional properties. In this study, the fungus *Rhizopus oligosporus* was used to ferment cassava bagasse, varying the temperature conditions, spore concentration and time, through a factorial design to define the mathematical modeling. The optimization was performed using the desirability tool for the variables antioxidant activity, crude protein and in vitro protein digestibility. The optimum fermentation treatment was carried out under the conditions of temperature of 28 °C, concentration of 108 spores per mL of suspension and time of 32 hours. The product was subjected to convective drying at temperatures of 40, 50, 60 and 70 °C, milled and sieved for standardization as flour, being then evaluated for technological and functional properties. Increased protein content, antioxidant activity and protein digestibility after fermentation were obtained. The dry flour at 70 °C was ideal, since the same demand lower drying time, has a high protein content (14.99 g 100g⁻¹), low lipid content (1.95 g 100g⁻¹) and shows antioxidant activity, being a potential ingredient for food industry products application or direct insertion in diets.

Key words: functional food, protein enrichment, flour

1. Introdução

Fungos filamentosos do gênero *Rhizopus* são reconhecidos como seguros (GRAS - Generally Regarded as Safe) pela FAO (2011), e são amplamente utilizados em países asiáticos para produção de alimentos pelas particularidades obtidas no produto final, como o aumento do teor de compostos fenólicos (Correia et al., 2004; Vатtem et al., 2004; Rhandir e Shetty, 2007). A espécie *Rhizopus oligosporus* é responsável pela fermentação em estado sólido de grãos de soja que origina o *tempeh*, alimento com alto teor proteico (36-42 % do peso seco), que pode ser utilizado como substituto de proteína animal por vegetarianos (Chang et al., 2009).

Na fermentação em estado sólido, em decorrência da digestão enzimática ocorre a hidrólise proteica, aumentando o teor de proteínas solúveis e ocasionando a liberação de aminoácidos como tirosina, metionina, prolina, triptofano e histidina (Saiga et al., 2003), vitaminas e ácidos graxos livres (Zang et al., 2014). Compostos antioxidantes se tornam mais biodisponíveis pela fermentação fúngica com *R. oligosporus* (Abd Razak, et al., 2015).

As enzimas produzidas por fungos são de extrema importância, já que são capazes de degradar a parede celular de plantas (Parveen et al., 2017), cuja estrutura complexa é composta por polímeros, pectina, polissacarídeos, celulose, hemicelulose e lipídeos (Karr e Albersheim, 1970). Resíduos agroindustriais possuem fibras, açúcares, vitaminas e minerais que servem como substrato para micro-organismos, assim, a fermentação se torna uma tecnologia eficiente no aproveitamento desse material (Liu e Zhou, 2014).

Tratando-se da produção de suco de caju, após a remoção da castanha (fruto) e extração do suco do pedúnculo (pseudofruto), gera 40 % de resíduo, sendo denominado de bagaço e constituído por película (epicarpo) e polpa remanescente (Abreu, 2001). O aproveitamento de resíduos introduz uma nova finalidade ao produto e reduz o impacto negativo ao meio-ambiente ocasionado por descartes inadequados. Esse tipo de medida, vem sendo incentivada e extensivamente pesquisada, em contrapartida ao crescimento da produtividade agrícola e/ou da utilização de tecnologias para agregar valor aos produtos trazendo benefício econômico e ambiental (Ugwuanyi, 2009).

Assim, o objetivo com este estudo foi realizar a fermentação de resíduo sólido (bagaço) provenientes da produção de suco de *Anacardium othonianum* Rizz. (caju-de-

árvore-do-cerrado) utilizando o fungo *R. oligosporus*, para produzir ingrediente para a indústria de alimentos.

2. Material e métodos

2.1. Preparo da amostra

O resíduo sólido (bagaço) foi obtido a partir da produção de suco de *A. othonianum* Rizz. Os frutos foram coletados em áreas remanescentes do Cerrado Goiano, na cidade de Montes Claros de Goiás (-16.1634, -51.3208). Após a coleta, os pseudofrutos foram separados dos frutos, lavados, sanitizados e acondicionados em embalagens plásticas para armazenagem até a produção do suco. Para a extração do suco, o pseudofruto foi homogeneizado em liquidificador e o resíduo separado por processo de filtração em malhas de fibras de nylon. O resíduo sólido do suco foi homogeneizado e congelado até o momento das análises.

2.2. Fermentação em estado sólido

O fungo *R. oligosporus* (cepa IOC-3801) foi obtido por doação da Coleção de Culturas de Fungos Filamentosos do Instituto Oswaldo Cruz. O mesmo foi recebido em placa ativada e procedeu-se a manutenção através de repiques periódicos (15 dias) em ágar glicose de batata (PGA).

A inoculação foi realizada em 25 g de substrato (bagaço) acondicionada em embalagens individuais de polipropileno (8 x 8 cm), devidamente seladas e perfuradas a cada 1 cm de distância. Todo o procedimento foi realizado em câmara de fluxo laminar com material (incluindo substrato e água) previamente esterilizado em autoclave (121°C por 15 minutos). Os esporos (Figura 2) foram contados em câmara de Neubauer com o auxílio de um microscópio eletrônico. Após a inoculação as embalagens foram mantidas em câmaras de germinação com temperatura controlada e circulação de ar, durante o tempo necessário para propagação do micélio do fungo pelo substrato, seguindo os parâmetros específicos para cada tratamento predefinido (Tabela 1).

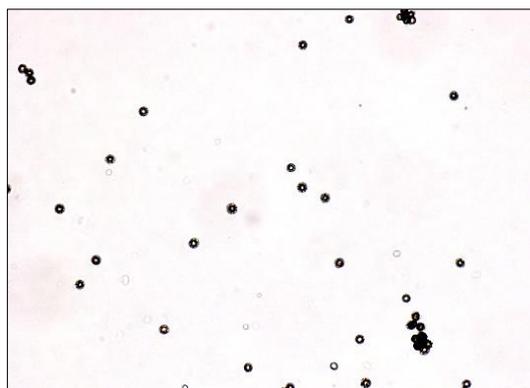


Figura 2. Esporos de *R. oligosporus* observados em microscópio eletrônico (40x)
Fonte: o autor, 2018.

Para avaliar a influência das condições de fermentação, foram realizados doze tratamentos baseado no trabalho de Ganzaroli e Benassi (2005), sendo: variações de temperatura de 28, 30 e 32°C, concentração de esporos de 10^6 e 10^8 por mL de suspensão para cada 25 g de substrato e tempo de fermentação de 30 e 32 horas (Tabela 1). Um tratamento sem fermentação (T0) foi incluído para comparação.

Tabela 1. Variáveis decodificadas e codificadas do planejamento experimental fatorial 2^3 dos ensaios fermentativos utilizando *R. oligosporus*

Tratamento	Temperatura (°C)	Concentração de esporos (log/mL da suspensão)	Tempo (h)
T0	S/ fermentação	S/ fermentação	S/ fermentação
T1	28 (-1)	10^6 (-1)	30 (-1)
T2	28 (-1)	10^6 (-1)	32 (+1)
T3	28 (-1)	10^8 (+1)	30 (-1)
T4	28 (-1)	10^8 (+1)	32 (+1)
T5	30 (0)	10^6 (-1)	30 (-1)
T6	30 (0)	10^6 (-1)	32 (+1)
T7	30 (0)	10^8 (+1)	30 (-1)
T8	30 (0)	10^8 (+1)	32 (+1)
T9	32 (+1)	10^6 (-1)	30 (-1)
T10	32 (+1)	10^6 (-1)	32 (+1)
T11	32 (+1)	10^8 (+1)	30 (-1)
T12	32 (+1)	10^8 (+1)	32 (+1)

Cada tratamento foi realizado em triplicata, sob condições idênticas, e posteriormente todas as análises foram realizadas também em triplicata, totalizando 9 repetições.

A eficiência da aplicação das diversas condições dos processos fermentativos foi avaliada com as variáveis respostas, sendo: a atividade antioxidante (pelos métodos de FRAP e DPPH), teor proteico e digestibilidade proteica do produto após a fermentação. Os resultados obtidos foram avaliados através da metodologia de superfície de resposta e otimizadas com a ferramenta desejabilidade, utilizando os maiores teores obtidos nas variáveis respostas. A análise estatística da etapa de fermentação foi realizada utilizando o software Statistica 7.0 (StatSoft, Tulsa, EUA) e o tratamento que obteve os melhores índices de resposta, calculado utilizando a ferramenta desejabilidade, foi utilizado na secagem.

2.3. Análises químicas

O teor de umidade ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$) foi determinado por secagem de 2 g de amostra em estufa com circulação de ar a 105°C até peso constante (AOAC, 2010). O resíduo mineral fixo ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$) foi quantificado após a pesagem da matéria seca por incineração em mufla a 550°C até obtenção de cinzas com tonalidade levemente acinzentada (AOAC, 2010).

A quantificação de lipídeos foi realizada utilizando o método de extração à frio (Bligh Dyer, 1959), homogeneizando 3 g da amostra com 10 mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 8 mL de água destilada, agitados por 30 minutos e seguidos de adição de 10 mL de clorofórmio e 10 mL de sulfato de sódio 1,5%, agitando por mais 2 minutos. Após separação completa das camadas, a fase superior foi descartada e a inferior filtrada em papel filtro com 1 g de sulfato de sódio. 5 mL do filtrado foi adicionado a um béquer previamente seco e tarado e levado a estufa (80°C por 20 minutos) para evaporação do solvente. A determinação é obtida pela Equação 1.

$$\text{Lipídeos (g } 100\text{g}^{-1}) = \frac{N*100}{P} \quad (1)$$

Em que N é o número de gramas de lipídeos e P é a massa em gramas da amostra.

O teor de proteínas ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$) foi determinado pelo método micro Kjeldhal (AOAC, 2010). Na digestão, foram pesados 0,5 g da amostra sólida em tubo de equipamento Kjeldahl, adicionados de 2,5 g da mistura catalítica (100 g de K_2SO_4 , 10 g de CuSO_4 e 0,8 g de selênio metálico em pó) e 7 mL de ácido sulfúrico PA. A digestão a quente foi realizada a 400°C até destruição completa da matéria orgânica e obtenção de

solução com coloração verde e translúcida. Após o resfriamento até temperatura ambiente, foram adicionados 10 mL de água destilada em cada tubo e os mesmos foram levemente agitados até atingirem coloração azul clara. Na destilação, foram adicionados 20 mL de solução de NaOH 40% ao destilador e acoplado para recolhimento de 125 mL do destilado, um Erlenmeyer com 20 mL de ácido bórico com indicador misto, e por fim foi realizada a titulação com HCl 0,1 N padronizado, como teor obtido pela Equação 2.

$$PB(g\ 100g^{-1}) = \frac{mL_{HCl} * F * N * 0,014 * f * 100}{g\ amostra} \quad (2)$$

Em que: mL_{HCl} é o volume de HCl gasto na titulação, N é a normalidade do HCl titulado (0,1), F é o fator de correção da normalidade do ácido e f é o fator de conversão de N em proteína, que foi utilizado 5,75, como indica a RDC Nº 360 (BRASIL, 2003).

O teor de carboidratos (g 100⁻¹) foi calculado por diferença (100 - umidade - cinzas - lipídeos - proteínas). O valor calórico foi determinado pelo fator de conversão de Atwater, que consiste na soma do teor proteico x 4, lipídeos x 9 e carboidratos x 4 (Horwitz, 2005).

O teor de sólidos solúveis foi quantificado por leitura direta de solução de farinha e água destilada (1:10) em refratômetro digital portátil. O pH foi determinado por leitura em pHmetro digital de bancada previamente calibrado com soluções tampão (pH 7,0 e 4,0). Para determinar a acidez, uma solução contendo 5 g de amostra em 100 mL de água destilada, e 0,3 mL de solução de fenolftaleína, foi titulada com solução de hidróxido de sódio 0,1 M até obtenção da coloração rósea persistente por 30 segundos, o cálculo foi realizado através da Equação 3 (AOAC, 2010).

$$\frac{V * f * M * 100}{P} = \text{acidez em mL de solução M por cento v/m ou v/v} \quad (3)$$

Em que: V é volume em mL de hidróxido de sódio gastos na titulação, f é o fator de correção da solução de hidróxido de sódio, P é a massa da amostra em g, e, M é a molaridade da solução de hidróxido de sódio.

A atividade antioxidante dos resíduos foi realizada utilizando dois métodos, sendo: DPPH (Brand-Williams et al., 1995) e FRAP (Rufino et al., 2006). O extrato foi obtido segundo o método descrito por Larrauri et al. (1997), com adaptações, utilizando 10 mL de solução de metanol 50%, 2 g de resíduo foram macerados e deixados em repouso por 60 minutos, o sobrenadante filtrado foi armazenado em balão (25 mL) e ao resíduo da primeira extração foram adicionados 10 mL de acetona 70%, da mesma forma, foi realizada a maceração e permaneceu em repouso por mais 60 minutos, o conteúdo foi filtrado e adicionado ao balão, o volume do extrato foi acertado com água destilada para

25 mL. Para o método de DPPH, foram adicionados 3,9 mL de solução de radical DPPH e 0,1 mL do extrato preparado em tubos de ensaio, deixando reagir por 30 minutos protegidos da luz, e a absorvância a 515 nm foi medida em espectrofotômetro UV-Vis para observar a captura do radical livre DPPH• através da % descoloração da amostra calculada por meio da Equação 4.

$$\% \text{descoloração} = \left[1 - \left(\frac{\text{abs amostra}}{\text{abs controle}} \right) \right] * 100 \quad (4)$$

A atividade antioxidante por redução do ferro (FRAP), foi realizada adicionando a alíquota de 90 µL do extrato, 270 µL de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP, previamente obtido a partir da mistura de tampão acetato (0,3 M, pH 3,6), solução de TPTZ (10 mM) e solução de cloreto férrico (20 mM), em uma proporção de 100:10:10. Após a homogeneização, a amostra foi submetida ao abrigo da luz por 30 minutos a 37°C com posterior leitura de absorvância em espectrofotômetro UV-Vis a 595 nm e os resultados foram expressos em equivalentes de sulfato ferroso que foi obtido por curva padrão.

Para determinação da digestibilidade proteica *in vitro* foi utilizado o método de Saunders (1973), com modificações. Uma solução contendo 0,25 g de amostra foi hidrolisada com 0,0015 g de pepsina (1:60000) em 15 mL de HCl 0,1 N a 37 °C por 3 horas, em banho-maria. Após esse período, o pH da solução foi neutralizado pela adição de NaOH 0,5 M, em seguida foram adicionados 7,5 mL de tampão fosfato de sódio 0,2 M, pH 8,0 e 0,012 g de pancreatina (USP/NF), procedendo-se a hidrólise por 24 horas a 37°C, em banho-maria sob agitação. As amostras foram filtradas, e com o resíduo realizou-se a quantificação de nitrogênio total conforme descrito. A amostra controle foi preparada apenas com os tampões e a amostra, não contendo enzimas. O cálculo da porcentagem de digestibilidade foi realizado a partir da Equação 5.

$$\% \text{ digestibilidade} = \frac{Nac - Nat}{NT} * 100 \quad (5)$$

Em que: Nac é a massa (mg) de nitrogênio da amostra controle; Nat é a massa (mg) de nitrogênio da amostra submetida à hidrólise enzimática; e, NT é a massa (mg) de nitrogênio total da amostra.

2.4. Obtenção do resíduo fermentado seco

2.4.1. Condições de secagem

O produto fermentado foi submetido à secagem em estufa com circulação de ar nas temperaturas de 40, 50, 60 e 70°C e pesagem a cada 30 minutos até obtenção de massa

constante para determinação das curvas de secagem. Por fim, as amostras foram trituradas em moinho de facas tipo Willye (Star FT-50, PIRACICABA, BRASIL), seguido de padronização quanto a sua granulometria (30 mesh) (BRASIL, 2005). A farinha foi acondicionada em embalagens de polietileno e mantida sob temperatura ambiente até a realização das avaliações tecnológicas e físico-químicas. O rendimento foi calculado pela divisão da massa de farinha pela massa do resíduo fermentado úmido, sendo expresso em porcentagem.

2.4.2. Avaliações tecnológicas da farinha

O índice de absorção de água (IAA), solubilidade em água (SA) e capacidade de absorção de óleo (CAO) foram determinados segundo Okezie e Bello (1988). Para isso, 0,5 g de farinha e 25 mL de água foram agitados em vortex e centrifugados (5300 rpm, 20 minutos), e o sobrenadante foi colocado em placa previamente tarada e levado a estufa 105°C para evaporação da água. SA foi calculado utilizando a Equação 6, enquanto o sólido úmido foi pesado e indicava IAA que foi calculado utilizando a Equação 7. A mesma metodologia foi utilizada substituindo água por óleo para a determinação da CAO que foi calculada utilizando a Equação 8.

$$SA = \frac{\text{resíduo de evaporação (g)}}{\text{peso da amostra (g)}} * 100 \quad (6)$$

$$IAA = \frac{\text{água absorvida pela amostra (g)}}{\text{peso da amostra (g)}} \quad (7)$$

$$CAO = \frac{\text{óleo absorvido pela amostra (g)}}{\text{peso da amostra (g)}} \quad (8)$$

A capacidade de formação de gel foi determinada de acordo com Coffmann e Garcia (1977), utilizando concentrações de 2 a 20% de farinha em 20 mL de água destilada, que foram aquecidas em banho-maria (90°C por 30 minutos), e seguidas de resfriamento em água corrente por 20 minutos e posteriormente em geladeira (4°C) por 2 horas. A observação visual foi realizada quanto à presença de gel ao inverter o tubo.

A avaliação de cor foi realizada com colorímetro digital portátil Konica Minolta (CR400, JAPÃO), calibrado de acordo com os parâmetros de iluminância D₆₅ e a leitura realizada diretamente na amostra através de feixe disparado pelo equipamento, os parâmetros L* (luminosidade), a*(+:vermelho, -:verde), b* (+: amarelo, -:azul), C* (Chroma: saturação) e h_{ab} (ângulo hue: tonalidade) que foram obtidos pelo próprio equipamento, através das coordenadas do espaço de cor CIE (*Commission Internationale de l'Eclairage*).

A acidez em álcool solúvel (AOAC, 2010), tipo de determinação utilizada em farinhas para facilitar a solubilização da amostra, foi determinada pela mistura de 50 mL de álcool etílico com 2,5 g de farinha por 24 horas. Uma amostra de 20 mL do sobrenadante foi pipetada e adicionada de 0,3 mL de fenolftaleína e titulada com NaOH 0,1 M padronizado. Um branco foi preparado com álcool etílico e o teor calculado utilizando a Equação 9.

$$\frac{(V-V')*f*100}{P*c} = \text{acidez em mL de solução por cento } v/m \quad (9)$$

Em que: V é o volume (mL) de NaOH gasto na titulação da amostra; V' é o volume (mL) NaOH gasto na titulação do branco; f é o fator de correção da solução NaOH 0,1 M; P é a massa (g) da amostra; e, c é o fator de correção para NaOH 0,1 M (10).

A avaliação de espectroscopia por Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi realizada em espectrofotômetro PerkinElmer Frontier (FT-IR/NIR, Waltham, MA, EUA), com região de 650-400 cm^{-1} , em 8 varreduras e resolução de 2 cm^{-1} , e o gráfico foi gerado através do software Origin 8.1 (OriginLab Corporation, 2009) e os picos comparados com a literatura.

2.5. Estatística

Os resultados das análises foram avaliados através de análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Tukey para comparação de médias entre as amostras (5% de significância), através de software estatístico Sisvar 5.6 (Ferreira, 2014).

3. Resultados e discussão

3.1 Caracterização do Substrato

A caracterização química do substrato foi disposta na Tabela 2.

Tabela 2. Caracterização do substrato sólido de *A. othonianum* Rizz.

Análises químicas	Teor obtido
Umidade (g 100g ⁻¹)	70,39 ± 0,56
Cinzas (g 100g ⁻¹)	0,37 ± 0,01
Lipídeos (g 100g ⁻¹)	0,47 ± 0,04
Proteínas (g 100g ⁻¹)	3,57 ± 0,63
Carboidratos (g 100g ⁻¹)	25,20 ± 0,95
Valor calórico (Kcal)	119,31

Sólidos solúveis (°Brix)	0,85 ± 0,07
pH	3,04 ± 0,06
Acidez titulável (mL M 100g ⁻¹)	21,76 ± 0,14

O substrato apresentou umidade de 70,39 g 100g⁻¹ assim como o que foi encontrado por Campos et al. (2005) (70,98 g 100g⁻¹) em estudo com bagaço de *Anacardium occidentale* L.. Estes autores relataram teor de proteínas (10,74 g 100g⁻¹) superior ao do presente trabalho, enquanto Rocha et al. (2013) encontraram teor inferior (1,10 g 100g⁻¹) para *Anacardium humile*, e pode ser explicado pela variação entre as espécies estudadas. Enquanto isso, Matias et al. (2005) relataram teor proteico de 3,25 g 100g⁻¹ para o bagaço de *Anacardium occidentale* L., que foi próximo ao encontrado no presente estudo.

O teor de cinzas encontrado neste trabalho, foi inferior ao descrito por Lima et al. (2012) (2,86 g 100g⁻¹) em bagaço seco de caju, e semelhante ao encontrado por Rocha et al. (2013) de 0,3 g 100g⁻¹ para pedúnculos inteiros de *Anacardium humile*.

Rocha et al. (2013) encontraram valor semelhante para o teor de lipídeos (0,3 g 100g⁻¹), enquanto Silva et al. (2008) relataram valor superior (0,63 g 100g⁻¹). Esta diferença pode estar relacionada ao fato de ambos trabalhos utilizarem o pedúnculo inteiro da espécie *Anacardium humile* para caracterização, enquanto neste trabalho se utilizou apenas o bagaço após a extração do suco.

O teor de sólidos solúveis encontrado neste trabalho, apresentou valor superior ao relatado por Lima et al. (2012) (0,1 °Brix) e inferior ao relatado por Alcântara et al. (2007) (25,31 °Brix) que avaliaram o bagaço de pedúnculo seco de caju. Esta diferença pode estar relacionada ao fato de os sólidos solúveis ficarem concentrados ao reduzir o teor de água através do processo de secagem (Campos, 2005) e também a possibilidade da extração do suco ter sido eficiente, tendo a concentração maior de sólidos solúveis no suco e não no bagaço utilizado no presente estudo.

O valor de pH encontrado neste trabalho foi inferior ao relatado por Machado et al. (2010) (4,06) em pedúnculo seco, e também a Lima et al. (2012) (6,69) em bagaço seco. A característica mais marcante do pedúnculo de *A. othonianum* Rizz é a acidez acentuada, por isso, os valores de pH são considerados baixos, revelando um bagaço com características particulares da espécie, tal fator é confirmado pela alta acidez titulável encontrada no presente estudo.

3.2 Otimização de tempo e temperatura de fermentação e concentração de inóculo

O efeito das variáveis tempo (30 e 32 horas), temperatura (28, 30 e 32°C) e concentração de inóculo (10^6 e 10^8 esporos mL de suspensão⁻¹) utilizados no processo fermentativo foram avaliados através das variáveis resposta: atividade antioxidante pelos métodos DPPH e FRAP, teor de proteína bruta e percentual de digestibilidade proteica *in vitro*. Os valores obtidos após a aplicação destas variáveis no processo encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3. Atividade antioxidante pelos métodos DPPH e FRAP, proteína bruta (PB) e digestibilidade proteica *in vitro* (DPI) para bagaço de caju-de-árvore-do-cerrado fermentado sob diferentes condições de temperatura (T), concentração de esporos (CE) e tempo de fermentação (TF).

Trat	Variáveis independentes			Variáveis dependentes			
	T	CE	TF	DPPH	FRAP	PB	DPI
T0	-	-	-	93,65	61,37	3,57	20,44
T1	28	10^6	30	88,05	59,51	3,52	72,19
T2	28	10^6	32	93,19	84,69	3,89	60,06
T3	28	10^8	30	92,80	69,99	4,52	19,72
T4	28	10^8	32	92,13	75,89	4,08	79,30
T5	30	10^6	30	88,31	51,96	4,04	51,31
T6	30	10^6	32	87,77	41,78	4,04	41,22
T7	30	10^8	30	91,36	60,76	3,53	30,27
T8	30	10^8	32	91,36	67,58	3,62	15,82
T9	32	10^6	30	78,15	27,74	3,13	32,17
T10	32	10^6	32	73,96	26,29	3,59	14,88
T11	32	10^8	30	93,53	88,46	3,26	57,66
T12	32	10^8	32	78,15	24,87	3,57	41,55

T (°C), CE (log ml⁻¹), TF (horas), DPPH (% de descoloração), FRAP (µM de sulfato ferroso g⁻¹ de amostra), PB (g 100g⁻¹) e DPI (%).

Na Figura 3 é possível observar os efeitos de cada variável dependente nas variáveis independentes através do diagrama de Pareto, exceto pela DPI, já que a variável não apresentou efeitos significativos e, por isso, não foi possível definir um modelo matemático.

Pode ser observado, na Tabela 3, aumento da DPI após a fermentação, em que os maiores valores foram obtidos em T1, T2 e T4, sendo três vezes superior ao substrato não fermentado (T0). Isso evidencia que o bioprocessamento melhora a digestibilidade proteica do substrato utilizado, e pode facilitar a absorção proteica no organismo humano. Morales et al. (2018) relatou percentual de digestibilidade inicial de 75,2 e o valor foi aumentado para 87,3 após a fermentação de folhas de mandioca, que foi semelhante ao comportamento encontrado neste trabalho.

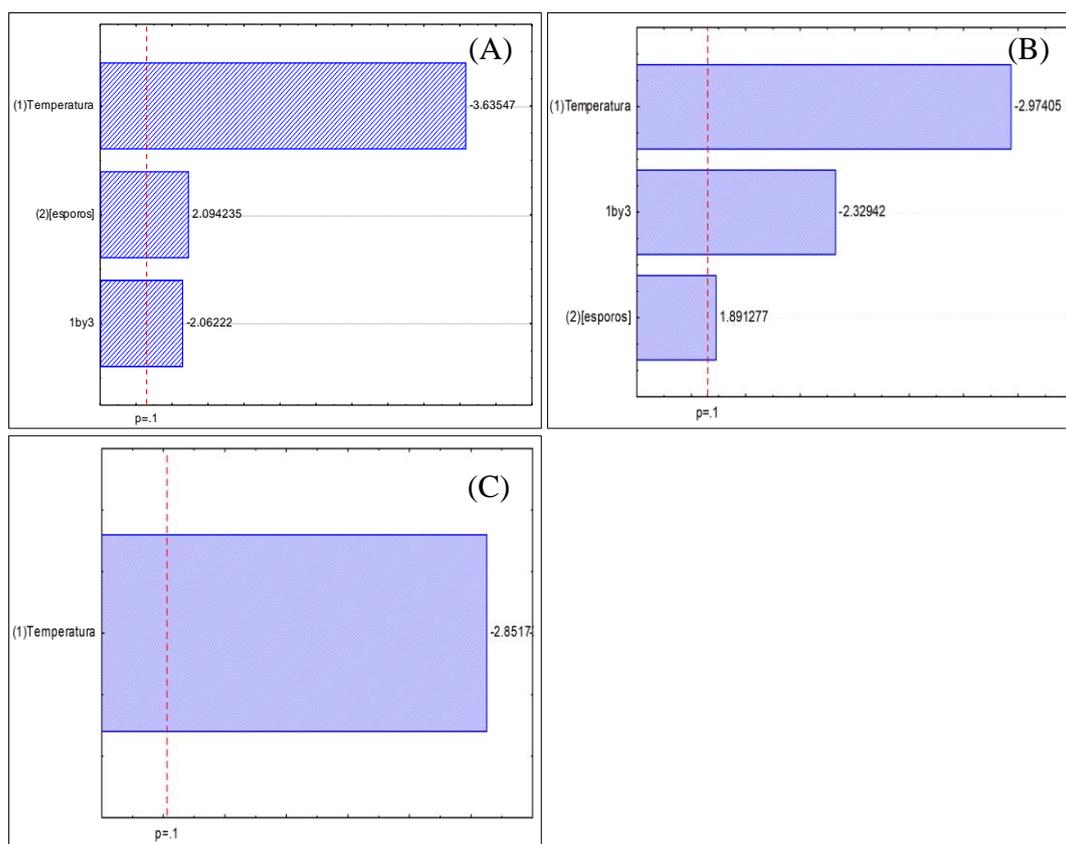


Figura 3. Diagrama de Pareto para as variáveis dependentes DPPH (A), FRAP (B) e Teor de Proteína Bruta (C) do resíduo sólido fermentado.

Pelos resultados obtidos (Figura 3), as variáveis temperatura e esporos e a interação entre temperatura e tempo de fermentação foram significativas ($p \leq 0,10$), o modelo matemático que representa a variável DPPH ($R^2 = 73,20\%$, $R_{adj} = 63,15\%$) está na Equação 10. Nos tratamentos com maior temperatura os níveis de atividade antioxidante diminuíram, na maior CE os valores obtidos para esta variável dependentes também foram maiores e quanto ao TF não foi observado efeito significativo.

$$DPPH = 87,4 - 5,3 * (T) + 2,5 * (CE) - 3 * (T * TF) \quad (10)$$

Valores de 68,60 $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ foram descritos por Infante et al. (2013), enquanto Broinizi et al. (2007) encontraram valores entre 90 e 93 % de atividade antioxidante para bagaço de *Anacardium occidentale* L., e corresponde com o obtido no tratamento controle (T0). Abd Razak et al. (2015), avaliando farelo de arroz fermentado obteve atividade antioxidante de 90,19 % em extratos metanólicos.

Na Figura 3 é possível observar que as variáveis temperatura e esporos e a interação entre temperatura e tempo de fermentação foram significativas ($p \leq 0,10$). O modelo matemático que representa a atividade antioxidante pelo método de FRAP ($R^2 = 69,05\%$, $R_{\text{adj}} = 57,44\%$) está na Equação 11. Os tratamentos submetidos a T mais elevada, apresentaram menor potencial, e é condizente, visto que estes compostos antioxidantes são termosensíveis e se degradam facilmente quando são submetidos a elevação de temperatura. Os tratamentos com maior CE se mostraram superiores, evidenciando que quanto mais micro-organismos presentes no substrato, maior o potencial antioxidante. A interação entre estas variáveis mostra que quanto menor o efeito de T e TF, maior será a atividade antioxidante (AA).

$$FRAP = 55,6 - 15,3 * (T) + 7,9 * (CE) - 12 * (T * TF) \quad (11)$$

Teor de 219,03 equivalentes de sulfato ferroso g^{-1} foram descritos por Infante et al. (2013) para bagaço de *Anacardium occidentale* L. Em trabalhos utilizando substratos amiláceos, a atividade antioxidante geralmente é elevada em níveis satisfatórios após a fermentação com *Rhizopus oligosporus*. Abd Razak et al. (2015), utilizando farelo de arroz com teor inicial de 30,93 e 30,22 $\mu\text{g AAE g}^{-1}$ obtiveram 61,34 e 116,33 $\mu\text{g AAE g}^{-1}$ em extratos metanólico e aquoso, respectivamente, após fermentação.

Efeitos benéficos contra doenças degenerativas são atribuídos às propriedades antioxidantes dos compostos bioativos, os quais inibem a oxidação de moléculas, evitando o início ou propagação das reações de oxidação em cadeia (Ayala-Zavala et al., 2011)

Para a variável dependente proteína bruta (PB), apenas temperatura foi significativa ($p \leq 0,1$), e seu o modelo matemático está descrita na Equação 12 ($R^2 = 44,85\%$, $R_{\text{adj}} = 39,33\%$). Tratamentos em que T foi menor, mostraram resultados mais satisfatórios, com maior teor de proteína, que foram inversamente proporcionais, e para CE e TF não foi observado efeito significativo.

$$PB = 3,73 - 0,31 * (T) \quad (12)$$

Foi possível observar aumento do teor proteico após a fermentação em alguns tratamentos, principalmente em T3, T4, T5 e T6. Campos et al. (2005) em estudo com

enriquecimento proteico de bagaço de caju obteve aumento de três vezes, correspondendo ao resultado final de 20,3 % de proteína em matéria seca.

Morales et al. (2018) avaliando a fermentação com *R. oligosporus* de folhas de mandioca e mesocarpo de babaçu obtiveram enriquecimento proteico de até 15 %. Yunus et al. (2015) utilizaram coparticipação de dois fungos *R. oligosporus* e *Candida utilis* na fermentação de farelo de trigo, observaram aumento de 4,21 para 41,02 g 100g⁻¹ para o teor de proteína bruta após a fermentação, que pode estar relacionado com a união dos dois fungos ao bioprocesso.

Utilizando a ferramenta desejabilidade e selecionando como resposta a obtenção dos maiores valores para as quatro variáveis dependentes, estudadas neste trabalho (atividade antioxidante pelos métodos de DPPH e FRAP, PB e DPI), a validação foi realizada conforme a Figura 4.

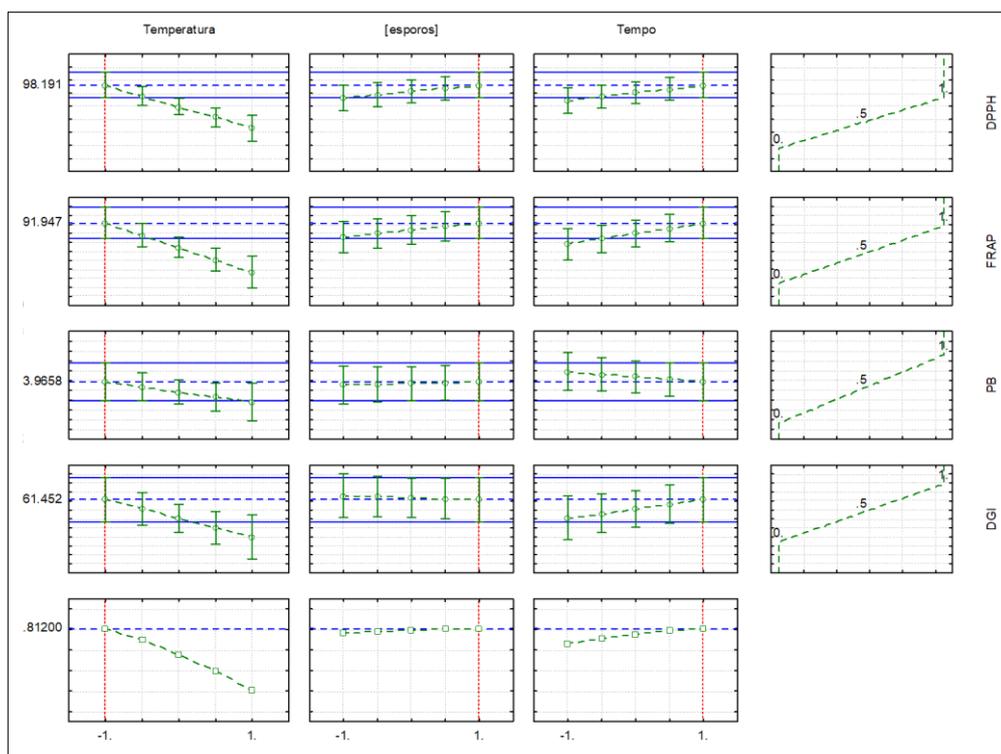


Figura 4. Validação do processo fermentativo através da ferramenta desejabilidade

Assim, o tratamento com melhores resultados foi T4, apresentando os seguintes parâmetros para o processo fermentativo: T=28 °C, CE=10⁸ e TF=32 horas. Para testar a aproximação dos resultados preditivos aos resultados experimentais, a fermentação foi realizada novamente com os parâmetros maximizados e as variáveis dependentes obtidas e a comparação entre os valores preditos e experimentais foram expostos na Tabela 4.

Tabela 4. T4 com valores preditos, experimentais e desvios para as variáveis dependentes do planejamento experimental

	DPPH	FRAP	PB	DPI
Valor predito	98,19	91,95	3,96	61,45
Valor experimental	92,88±0,89	96,19±0,62	4,22±0,13	76,51±9,20
Desvio	0,06	0,04	0,06	0,20

DPPH (% de descoloração), FRAP (μM de sulfato ferroso g^{-1} de amostra), PB ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$) e DPI (%)

Modelos adequados devem apresentar desvios abaixo de 0,9 (Maximo et al., 2013), o cálculo dos desvios seguiu a Equação 13, assim foi possível observar que todos os desvios encontrados foram relativamente baixos, evidenciando que o modelo proposto foi adequado. O maior desvio encontrado foi para DPI, e está relacionado com o fato de nenhum efeito ter sido significativo e assim a modelagem para tal variável resposta não foi possível. O substrato fermentado desenvolvido nestas condições seguiu para a etapa de secagem convectiva em diferentes temperaturas com a finalidade de produção de farinha.

$$Desvio = \frac{\text{valor experimental} - \text{valor predito}}{\text{valor experimental}} \quad (13)$$

3.3 Caracterização de farinha com potencial funcional

O comportamento da curva de secagem está apresentado na Figura 5. Foi possível observar que houve diminuição do teor de água do resíduo fermentado com o aumento do tempo de secagem, e quanto mais alta a temperatura submetida, menor o tempo gasto para a estabilização do peso do material. Em altos níveis de temperatura, a diferença de calor empregado ao ar e a amostra é maior, acelerando o processo de troca térmica e consequentemente a transferência de massa, como vapor de água, reduzindo assim a umidade do material de forma mais rápida (PARK et al., 2014).

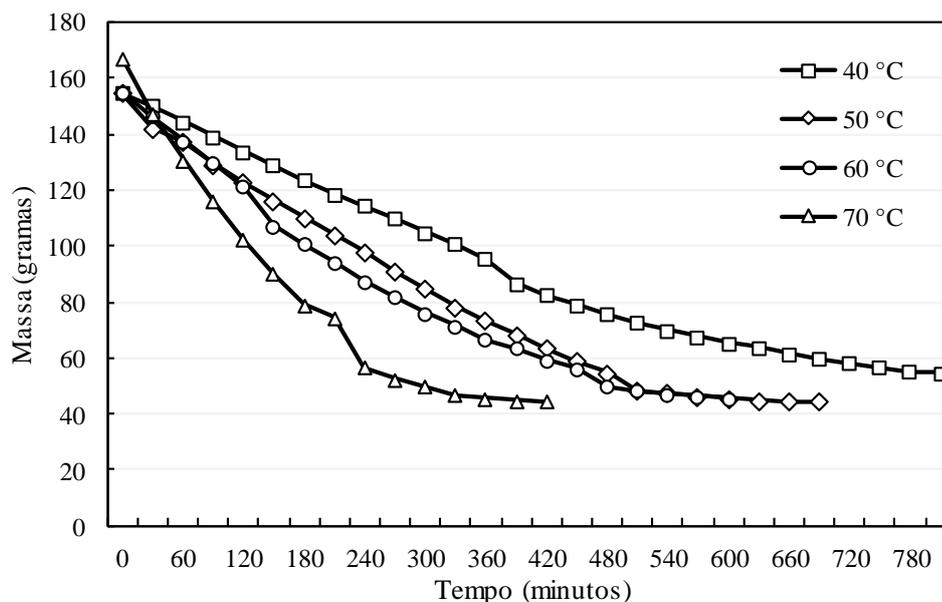


Figura 5. Curva de secagem convectiva em estufa com temperaturas de 40, 50, 60 e 70°C

O resíduo sólido seco a 70°C gastou 420 minutos para atingir a estabilidade durante o processo de secagem. Quando a temperatura de 40°C foi utilizada o tempo gasto foi praticamente duas vezes maior (810 minutos). Se considerar que não houve perdas sensoriais ou nutricionais, a maior temperatura poderia ser utilizada com a finalidade de diminuir o gasto de energia do processo.

A caracterização química da farinha desenvolvida (Tabela 5), mostrou que todas as temperaturas utilizadas na secagem foram suficientes para alcançar os padrões de umidade (inferior a 15 %), estabelecidos pela ANVISA (BRASIL, 2005).

Tabela 5. Caracterização química (base seca) de farinhas com potencial funcional submetidas as diferentes temperaturas de secagem

Tratamento	T40	T50	T60	T70
Umidade (g 100g ⁻¹)	8,60 ± 0,09 ^b	8,07 ± 0,06 ^c	8,94 ± 0,04 ^a	7,14 ± 0,06 ^d
Cinzas (g 100g ⁻¹)	1,32 ± 0,04 ^a	1,22 ± 0,23 ^a	1,32 ± 0,05 ^a	1,29 ± 0,07 ^a
Lipídeos (g 100g ⁻¹)	1,95 ± 0,05 ^a	1,89 ± 0,05 ^a	1,86 ± 0,07 ^a	1,95 ± 0,06 ^a
Proteínas (g 100g ⁻¹)	14,89±0,65 ^a	14,85±0,05 ^a	13,93±0,96 ^a	14,99±0,04 ^a
Carboidratos (g 100g ⁻¹)	81,84±0,67 ^a	82,04±0,13 ^a	82,88±0,87 ^a	81,77±0,05 ^a
Valor calórico (Kcal)	404,46	404,58	404,04	404,59
SS (°Brix)	2,30 ± 0,00 ^c	2,7 ± 0,00 ^b	3,1 ± 0,00 ^a	2,7 ± 0,00 ^b
pH	2,99 ± 0,01 ^a	2,91 ± 0,01 ^c	2,97±0,01 ^{ab}	2,94±0,01 ^{bc}

AAS (v m^{-1})	22,05±2,53 ^a	24,64±2,25 ^a	25,83±0,56 ^a	24,84±0,84 ^a
DPPH (%)	92,89±0,08 ^a	90,51±0,21 ^c	91,44±0,14 ^b	90,84±0,16 ^c
FRAP ($\mu\text{M de SF g}^{-1}$)	105,75±1,80 ^b	91,17±0,19 ^c	258,54±5,31 ^a	265,63±5,96 ^a

Médias com letras iguais na mesma linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey a 5% de significância. SS: Sólidos solúveis, AAS: Acidez álcool solúvel, SF: Sulfato ferroso

Quanto aos teores de cinzas, lipídeos, proteínas e carboidratos não houve diferença significativa entre as temperaturas de secagem. Os valores encontrados no presente trabalho, demonstram que as farinhas apresentaram baixo índice de lipídeos e alta concentração de proteínas e carboidratos, isto é um fator importante para compor uma dieta nutricionalmente rica. Sabendo que a IDR (Ingestão Diária Recomendada) de proteína para adultos é de 50 g, são necessários 20% da IDR por 100 g para alegação de produto com alto teor/rico em proteína (BRASIL, 1998), todas as farinhas estudadas se enquadram como alimento com alto teor de proteína.

O teor proteico apresentou valores satisfatórios após a fermentação e mais vantajosos ainda quando o substrato fermentado foi submetido à secagem, tendo seus compostos concentrados após a remoção da água livre, e as diferentes temperaturas de secagem não afetaram significativamente o conteúdo proteico. Assim, a fermentação de resíduos agroindustriais é uma opção extremamente viável, visto que através dela produtos com alto teor de proteína podem ser originados.

O valor calórico para 100 g de farinha é em média 400 Kcal, sendo um alimento calórico e ao mesmo tempo saudável, já que possui alegação funcional, conferida aos alimentos que levam algum benefício para o organismo, além de apenas nutrir, neste caso, o potencial de atividade antioxidante auxilia na redução dos radicais livres, reduzindo os danos causados ao corpo pelas reações oxidativas em cadeia.

O teor de sólidos solúveis foi maior na farinha que apresentou também maior umidade (60 °C), já na menor temperatura de secagem foi observado o menor teor. Os valores no presente trabalho são inferiores aos relatados por Reis et al. (2017), que variavam de 8,33-11,17 °Brix para farinhas de acerola, o que é aceitável já que é na polpa que são encontrados maior teor de sólidos solúveis do que no resíduo.

O pH diminuiu com o aumento da temperatura, os valores representam um produto com característica ácida, que condiz com o substrato utilizado, já que o pseudofruto de *Anacardium othonianum* Rizz. apresenta acidez acentuada. A acidez em

álcool solúvel não apresentou diferença significativa entre as temperaturas e apresentou valores altos, condizentes com o pH baixo encontrado (Tabela 5).

Durante as etapas de obtenção das farinhas, a atividade antioxidante sofreu modificações, como pode ser verificado na Figura 6a. Foi possível observar que a fermentação não aumentou a atividade antioxidante como é geralmente relatado na literatura. Abd Razak et al. (2015) obtiveram aumento de atividade antioxidante pelo método DPPH de 87,51 para 90,19 % após fermentação com *Rhizopus oligosporus*. Na Figura 6b, foi possível observar que T60 e T70 apresentam maior potencial antioxidante pelo método FRAP, além do aumento com relação ao substrato e do fermentado antes da secagem.

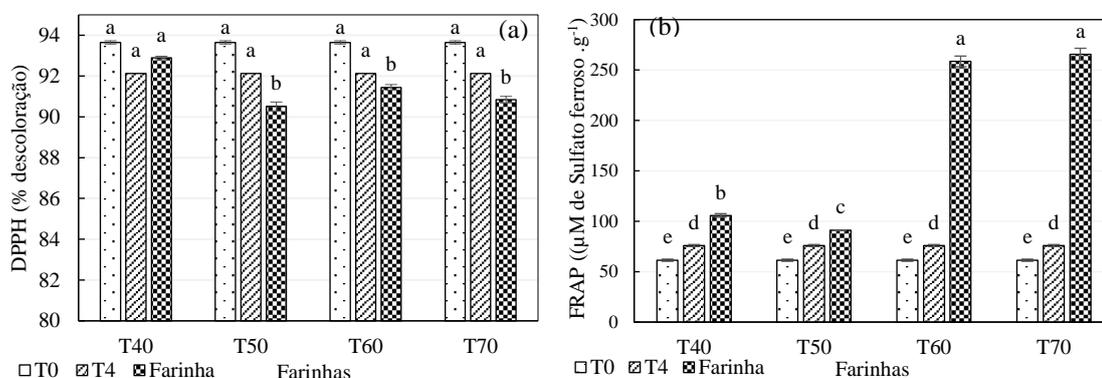


Figura 6. Atividade antioxidante pelos métodos DPPH (Fig. 6a) e FRAP (Fig. 6b) do substrato (T0), produto fermentado (T4) e das farinhas secas em temperaturas distintas

Isso pode ser explicado pelo princípio de identificação dos compostos antioxidantes, que é diferente entre os dois métodos. Pelo método de DPPH melhores resultados são encontrados quando os compostos antioxidantes presentes na amostra são solúveis em solventes orgânicos, enquanto o método de FRAP é mais utilizado para determinação de soluções aquosas, visto que o próprio reagente é diluído em água e ácido. Alguns compostos antioxidantes específicos podem ter seu potencial elevado com o aumento da temperatura, como o que foi observado em ácidos cafeíco, gálico e protocatequínico por Gadow et al. (1997).

Na análise de infravermelho (Figura 7) foi possível identificar a presença de carbonos alifáticos primários e secundários, nos picos entre 2850-3000 cm^{-1} ; banda larga com pico em 2350 cm^{-1} representando OH associado; picos entre 1500-1650 cm^{-1} , característicos de ligações C=C de aromáticos, que podem estar relacionados com os níveis de atividade antioxidante presentes nas farinhas; e, pico intenso em 1000 cm^{-1}

característico de ligações C-O de álcoois e fenóis. As farinhas T40, T50 e T70 se comportaram de modo semelhante, nas menores temperaturas os picos eram levemente mais intensos e nas maiores, picos menos intensos, com exceção da T60 que não seguiu o mesmo padrão, não apresentando picos após 2400 cm^{-1} .

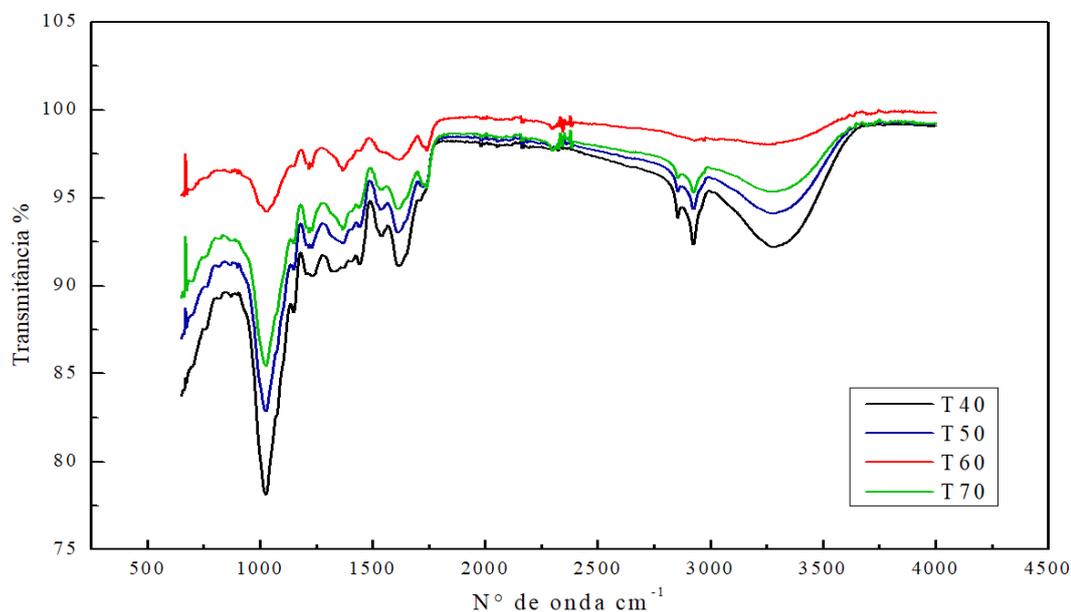


Figura 7. Espectros obtidos por Infravermelho das farinhas T40, T50, T60 e T70

A Tabela 6 apresenta as avaliações tecnológicas realizadas com as farinhas obtidas de diferentes temperaturas de secagem. A formação de gel não foi obtida em nenhuma das proporções testadas (2 a 20%) de farinha, que pode ter ocorrido pelo baixo índice de absorção e solubilidade em água.

Foi possível observar que o índice de absorção de água foi maior nas temperaturas de 40 e 60°C e a solubilidade em água foi afetada pelo aumento da temperatura, sendo inferior quando submetida a secagem em menor temperatura (40°C). Valores próximos para SA foram obtidos em farinhas de arroz com 1,1 %, sendo relacionado com a quantidade de sólidos solúveis (Borba et al., 2005), T40 apresentou menor teor de SS e também de SA.

Enquanto isso, a capacidade de absorção de óleo não sofreu alterações decorrente da temperatura do processo de secagem. Para CAO, Ferreira et al. (2015) encontrou 1,91 g.g^{-1} em farinhas de frutos e vegetais, valor próximo ao obtido no presente trabalho. IAA foi maior do que CAO para todas as temperaturas, diferença que pode ser explicada pela presença de compostos hidrofílicos comum em estruturas vegetais (Ferreira et al., 2015).

Tabela 6. Propriedades tecnológicas e colorimétricas de resíduo sólido fermentado seco em temperaturas distintas

Tratamentos	T40	T50	T60	T70
IAA (g.g ⁻¹)	4,5 ± 0,65 ^a	3,18 ± 0,26 ^b	4,66 ± 0,39 ^a	2,91 ± 0,14 ^b
SA (%)	0,19 ± 0,01 ^b	0,22 ± 0,01 ^a	0,22 ± 0,02 ^a	0,24 ± 0,00 ^a
CAO (g.g ⁻¹)	2,24 ± 0,12 ^a	2,10 ± 0,19 ^a	1,97 ± 0,14 ^a	2,18 ± 0,25 ^a
L*	53,28 ± 0,85 ^a	50,19 ± 1,53 ^{ab}	47,07 ± 1,05 ^b	52,42 ± 2,20 ^a
a*	10,13 ± 0,23 ^b	10,77 ± 0,19 ^a	10,70 ± 0,12 ^a	9,98 ± 0,14 ^b
b*	24,02 ± 0,45 ^a	22,75 ± 0,52 ^a	23,14 ± 0,42 ^a	22,73 ± 0,76 ^a
C*	26,07 ± 0,51 ^a	25,17 ± 0,54 ^a	25,50 ± 0,42 ^a	24,83 ± 0,74 ^a
H	67,13 ± 0,14 ^a	64,66 ± 0,15 ^c	65,19 ± 0,20 ^c	66,28 ± 0,45 ^b
Rendimento (%)	19,72	16,38	14,93	16,46
Imagem				

Médias com letras iguais na mesma linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey a 5% de significância.

Quanto aos parâmetros de cor, T40 e T70 não apresentaram diferença significativa para luminosidade, embora os demais tratamentos tenham apresentado valores inferiores, revelando escurecimento, que pode ser explicado pela exposição prolongada à temperatura elevada. Quando um alimento é submetido com temperaturas superiores a 40°C, ocorre a reação de Maillard, em que açúcares e proteínas reagem, formando melanoidinas, as quais são responsáveis pelo escurecimento e coloração marrom (Finot, 2005). Da mesma forma, para o croma a*, T40 e T70 não apresentaram diferença significativa, com valores inferiores aos demais tratamentos, indicando menor proximidade de cor vermelha.

A saturação (C*), que indica a distância do ponto central, e o parâmetro b*, que vai de azul a amarelo, não apresentaram diferença significativa em nenhuma das temperaturas utilizadas, evidenciando semelhança geral com relação a cor das farinhas. A tonalidade (h_{ab}) apresentou maior ângulo para a menor temperatura, o valor médio de 65° demonstra aproximação moderada do tom amarelo (90°) e distanciação de tom vermelho (0°), onde a farinha com cor marrom, como pode ser observada nas imagens presentes na Tabela 6.

4. Conclusões

O resíduo do caju-de-árvore-do-cerrado, em sua composição, apresentou nutrientes viáveis para utilização como substrato para micro-organismos, sendo eficiente para uso na fermentação em estado sólido.

A modelagem matemática da fermentação de resíduo sólido de *A. othonianum* Rizz por *Rhizopus oligosporus*, foi realizada e os parâmetros de temperatura, concentração de esporos e tempo estabelecidos como 28°C, 10⁸ de esporos e 32 horas, de forma a obter os melhores teores de proteína bruta e atividade antioxidante.

A secagem em diferentes temperaturas mostrou que a mesma pode ser realizada a 70°C, para tornar o processo mais ágil, com menor gasto energético e manutenção dos parâmetros nutricionais do produto.

A farinha obtida se mostra como ingrediente com potencial de enriquecimento de alimentos que pode ser utilizada na indústria das mais variadas formas, mediante testes prévios, os quais podem ser alvo de futuras pesquisas, como substituição parcial de farinha de trigo em produtos de panificação, no desenvolvimento de novos produtos ou como incremento nutritivo na dieta através do consumo direto.

Os benefícios deste método de aproveitamento de resíduo vão além da área nutricional, evitando prejuízo ambiental decorrente do acúmulo de resíduos através da destinação adequada dos mesmos e incentivo para a economia oferecendo a possibilidade de um novo produto para os produtores de caju-de-árvore-do-cerrado da região.

5. Agradecimentos

Os pesquisadores agradecem a FAPEG, a CAPES e ao CNPQ, pelo auxílio à pesquisa.

6. Referências

- Abd Razak, D. L., Abd Rashid, N. Y., Jamaluddin, A., Sharifudin, S. A., Long, K. Enhancement of phenolic acid content and antioxidant activity of rice bran fermented with *Rhizopus oligosporus* and *Monascus purpureus*. (2015). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2014.11.003>
- Abreu, F. A. P. de. Extrato de bagaço de caju rico em pigmentos. (2001). Int. A23L 1/222, BR. n. PI 0103885-0.

Alcântara, S. R., Almeida, F. A. C., Silva, F. L. H. Emprego do bagaço seco do pedúnculo do caju para posterior utilização em um processo de fermentação semi-sólida. (2007). *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 9(2), 137-142.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. Official methods of Analysis. 18^a ed. (2010). Washington DC USA.

Ayala-Zavala, J.F., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodriguez, J.A., Siddiqui, M. W., Dávila-Aviña, J.E., González-Aguilar, G.A. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. (2011). *Food Research International*, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.021>

Bligh, E.G., Dyer, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. (1959). *Canadian Journal of Biochemistry Physiology*, 37(8), 911-917.

Borba, A. M., Sarmiento, S. B. S., Leonel, M. (2005). Effect of extrusion parameters on sweet potato extrudates. *Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-2061200500040003>

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. (1995). *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30, 1995.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC Nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. (2003). http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0360_23_12_2003.pdf/5d4fc713-9c66-4512-b3c1-afee57e7d9bc. Acesso novembro 2018.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria Nº 27, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento técnico referente à informação nutricional complementar. (1998) http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs1/1998/prt0027_13_01_1998.html. Acesso novembro 2018.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. (2005). http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC_269_2005.pdf/2e95553c-a482-45c3-bdd1-f96162d607b3. Acesso novembro 2018.

- Broinizi, P. R. B., Andrade-Wartha, E. R. S., Silva, A. M. O. S., Novoa, A. J. V., Torres, R. P., Azeredo, H. M. C., Alves, R. E., Mancini-Filho, J. Evaluation of the Antioxidant Activity of Phenolic Compounds Naturally Contained in By-products of the Cashew Apple (*Anacardium occidentale* L.). (2007). *Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27(4), 902-908.
- Campos, A. R. N., Santana, R. A. C., Dantas, J., Oliveira, L. S. C.; da Silva, Honorato, F. L. Enriquecimento proteico do bagaço do pedúnculo de caju por cultivo semi-sólido. (2005). *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, 5(2).
- Chang, C.T., Hsu, C.K., Chou, S.T., Chen, Y. C., Huang, F. S., Chung, Y. C. Effect of fermentation time on the antioxidant activities of tempeh prepared from fermented soybean using *Rhizopus oligosporus*. (2009). *International Journal Food Science. Technology*, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01907.x>.
- Coffmann, C. N., Garcia, V. V. Functional properties and amino acid content of a protein isolated from mung bean flour. (1977). *Journal of Food Technology*, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1977.tb00132.x>.
- Correia, R. T. P., McCue, P., Magalhães, M. M. A., Macedo, G. R., Shetty, K. Production of phenolic antioxidants by the solid-state bioconversion of pineapple waste mixed with soy flour using *Rhizopus oligosporus*. (2004). *Process Biochemistry*, 39(12), 2167-2172.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Statistical databases. < <http://www.fao.org/>>. Acesso outubro 2018.
- Ferreira, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. (2014). *Ciência e agrotecnologia*, <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>.
- Ferreira, M. S. L., Santos, M. C. P., Moro, T. M. A., Basto, G. J., Andrade, R. M. S., Gonçalves, E. C. B. A. (2015). Formulação e caracterização de alimentos funcionais à base de farinha de frutas e hortaliças. *Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 52(2), 822–830.
- Finot, P. A. (2005). Historical perspective of the Maillard reaction in food science. *Annals of the New York Academy Sciences*, <https://doi.org/10.1196/annals.1333.001>
- Gadow, V. A.; Joubert, E.; Hansmann, C. F. Comparison of the Antioxidant Activity of Aspalathin with That of Other Plant Phenols of Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*), α -

- Tocopherol, BHT, and BHA. (1997). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45 (3), 632-638.
- Ganzaroli, J. F., Benassi, V. T. (2005). Obtenção e uso da farinha de *tempeh* em bolos. Embrapa Soja. Campo Mourão-PR.
- Horwitz, W., Latimer, G (Ed.): Official methods of analysis of AOAC International. 18th ed. Gaithersburg: AOAC International, 2005. ISBN 0935584757
- Hutkins, R. W. Microbiology and technology of fermented foods – Fermentation of Food in Orient, 1st ed. (2006). Blackwell Publishing Lda, Iowa, 436-443.
- Infante, J., Selani, M. M., Toledo, N. M. V., Silveira-Diniz, M. F., Alencar, S. M., Spoto, M. H. F. Atividade antioxidante de resíduos agroindustriais de frutas tropicais. (2013). *Alimentos e Nutrição= Brazilian Journal of Food Nutrition*, 24(1), 87-91.
- Karr, A. L., Albersheim, P. Polysaccharide degrading enzymes are unable to attack plant cell walls without prior action by cell wall modifying enzyme. *Plant Physiology*, <https://doi.org/10.1104/pp.46.1.69>
- Larrauri, J. A., Rupérez, P., Saura-Calixto, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels (1997). *Journal Agriculture and Food Chemistry*, 45, 1390-1393.
- Lima, E. E., Silva, F. L. H., Oliveira, L. S. C., Silva, A. S., Silva-Neto, J. M. Produção de etanol de segunda geração proveniente do bagaço de pedúnculo do caju. (2015). *Revista Caatinga*, 28(2), 26–35.
- Liu, X., Zhou, P. Solid-state food fermentation and sustainable development. (2014) In: *Solid State Fermentation for Foods and Beverages*, Ed. by Chen, J. and Zhu, Y. (pp. 347–386). CRC Press, Boca Raton.
- Machado, A.V., Oliveira, E.L., Santos, E.S., Oliveira, J.A., Freitas, L.M., Abreu, F.A.P., Souza, A.C.R. Estudo cinético da secagem do pedúnculo de caju e um secador convencional. (2010). *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 5(1), 36-42.
- Matias, M. F. O., Oliveira, E. L., Magalhães, M. M. A. Use of fibrous obtained from the cashew (*Anacardium occidentale L.*) and guava (*Psidium guayava*) fruits for enrichment of food products. (2005). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48, 143-150.

- Maximo, G. J., Costa, M. C., Meirelles, A. J.A. Solid-liquid equilibrium of triolein with fatty alcohols. (2013). *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-66322013000100005>
- Morales, E. M., Domingos, R. N., Angelis, D. F. Improvement of Protein Bioavailability by Solid-State Fermentation of Babassu Mesocarp Flour and Cassava. (2018). *Waste and Biomass Valorization*, <https://doi.org/10.1007/s12649-016-9759-y>
- Okezie, B., Bello, A. B. Physico-chemical and functional properties of winged beans flour and isolated compared with soy isolated (1988). *Journal Food Science*, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1988.tb07728.x>.
- Park, K. J. B., Park, K. J., Alonso, L. F. T., Cornejo, F. E. P., Fabbro, I. M. D. Secagem: Fundamentos e Equações. (2014). *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 16(1), 93-127.
- Parveen, S., Wani, A. H., Bhat, M. Y., Koka, J. A., Fazili, M. A. Variability in production of extracellular enzymes by different fungi isolated from rotten pear, peach and grape fruits. (2017). *Brazilian Journal of Biology*, <https://doi.org/10.21472/bjbs.040804>
- Randhir, R., Shetty, K. Mung beans by solid-state bioconversion improves phenolic content and functionality relevant for diabetes and ulcer management (2007). *Inovative Food Science Emerging Technologies*, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2006.10.003>
- Reis, D. S., Figueiredo Neto, A., Ferraz, A. V., Freitas, S. T. Produção e estabilidade de conservação de farinha de acerola desidratada em diferentes temperaturas. (2017). *Brazilian Journal and Food Technology*, <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.8315>.
- Rocha, M. S., Figueiredo, R. W., Araújo, M. A. M., Moreira-Araújo, R. S. R. Caracterização físico-química e atividade antioxidante (*in vitro*) de frutos do cerrado piauiense. (2013). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35(4), 933-941.
- Ross, R. P., Lyon Morgan, S., Hill, C. (2002). Preservation and fermentation: past, present and future. *International Journal of Food Microbiology*, 79(1-2), 3-16.
- Rufino, M. do S. M., Alves, R. E., Brito, E. S. de, Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., Mancini-Filho, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil (2010). *Food Chemistry*, 121(4), 996-1002.

- Saiga, T., Tanabe, S., Nishimura, T. Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatments. (2003). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, <https://doi.org/10.1021/jf021156g>
- Saunders, R. M., Connor, M. A., Booth, A. N., Bickoff, E. M., Kohler, G. O. (1973). Measurement of Digestibility of Alfalfa Protein Concentrates by in vivo and in vitro Methods. *The Journal of Nutrition*, <https://doi.org/10.1093/jn/103.4.530>
- Silva, M. R., Lacerda, D. B. C. L., Santos, G. G., Martins, D. M. de O. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. (2008). *Ciência Rural*, 38(6), 1790-1793.
- Ugwuanyi, J. O., McNeil, B., Harvey, L. M. (2009). Production of protein-enriched feed using agro-industrial residues as substrates In: *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation Utilization of Agro-Residues* (pp. 77–104). Springer, Berlin.
- Vattem, D. A., Shetty, K. Solid-state production of phenolic antioxidants from cranberry pomace by *Rhizopus oligosporus*. (2002). *Food Biotechnology*, 16(3), 189–210.
- Yunus, F. N., Nadeem, M., Rashid, F. Single-cell protein production through microbial conversion of lignocellulosic residue (wheat bran) for animal feed. (2015). *Journal of the Institute Brewing*, <https://doi.org/10.1002/jib.251>
- Zhang, S., Shi, Y., Zhang, S., Shang, W., Gao, X., Wang, H. Whole soybean as probiotic lactic acid bacteria carrier food in solid-state fermentation. (2014). *Food Control*, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.12.026>