**ENRIQUECIMENTO PROTÉICO DAS FARINHAS DE ARROZ, BANANA
E MANDIOCA ATRAVÉS DE FERMENTAÇÃO SEMI-SÓLIDA COM
FUNGOS FILAMENTOSOS**

SOLANGE GUIDOLIN CANNIATTI-BRAZACA

Nutricionista

Orientadora: Prof.^a Dr.^a JOCELEM MASTRODI SALGADO

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de Concentração: Ciências e Tecnologia de Alimentos.

P I R A C I C A B A

Estado de São Paulo - Brasil

Novembro - 1989

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCAP/USP

Canniatti-Brazaca, Solange Guidolim

C225e Enriquecimento protéico das farinhas de arroz, ba
nana e mandioca através de fermentação semi-sólida
com fungos filamentosos. Piracicaba, 1989.
119p. ilustr.

Diss.(Mestre) - ESALQ
Bibliografia.

1. Alimento - Fermentação 2. Farinha de arroz -
Enriquecimento protéico 3. Farinha de banana - Enri
quecimento protéico 4. Farinha de mandioca - Enri
quecimento protéico 5. Fermentação 6. Fungo - Inoculação
7. Proteína fúngica em alimento I. Escola Superior de
Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba

CDD 664.725

ENRIQUECIMENTO PROTÉICO DAS FARINHAS DE ARROZ, BANANA
E MANDIOCA ATRAVÉS DE FERMENTAÇÃO SEMI-SÓLIDA COM
FUNGOS FILAMENTOSOS

SOLANGE GUIDOLIN CANNIATTI-BRAZACA

Aprovada em: 11.12.89

Comissão julgadora:

Profª Drª Jocelen Mastrodi Salgado	ESALQ/USP
Prof. Dr. Hiroshi Kimati	ESALQ/USP
Prof. Dr. Luiz Eduardo Gutierrez	ESALQ/USP

Profª Drª Jocelen Mastrodi Salgado
Orientadora

.iii.

*Aos meus pais, Hédio e Theresa,
e ao meu esposo César, os quais
contribuíram para a realização
deste trabalho.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

- À Professora e orientadora Jocelem Mastrodi Salgado pelo apoio, dedicação, amizade e orientação prestados no decorrer de todo o trabalho;
- Ao Professor Eric Balmer, Chefe do Departamento de Fitopatologia, da ESALQ/USP, pela cessão das instalações e equipamentos;
- Aos Professores Clélio Lima Salgado, Hiroshi Kimati e Tasso Leo Krügner, do Departamento de Fitopatologia, da ESALQ/USP, pela contribuição prestada no desenvolvimento deste trabalho;
- Aos Professores Luiz Eduardo Gutierrez e Luiz Carlos Basso, do Departamento de Química, da ESALQ/USP, pela valiosa colaboração na parte experimental do trabalho;
- Ao Professor José Ernesto dos Santos da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP, pelo auxílio prestado;
- Ao Professor Mário Roberto Vizioli, da Área de Patologia do Departamento de Diagnóstico Oral da Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP, pela dedicação e auxílio na análise toxicológica;
- Ao Professor Décio Barbin e Maria Izalina Alves, do Departamento de Matemática e Estatística, da ESALQ/USP, pela análise estatística dos dados;
- À Bibliotecária Beatriz Helena Giongo, pela revisão das referências bibliográficas;

Aos técnicos de laboratório Maria de Lourdes Perin Storer, Fernanda Y. Bassa Groppo, José Rodolpho Groppo, da ESALQ/USP e Fabiana Facco Casarotti da FOP/UNICAMP, pela valiosa colaboração no decorrer do trabalho experimental;

À Maria Ines Delucchi Zaparrart, colega do Curso de Pós-Graduação, pela sua amizade e dedicação;

Ao CNPq pelo apoio financeiro;

A todas as pessoas que direta ou indiretamente colaboraram para o desenvolvimento deste trabalho.

Í N D I C E

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	xiii
RESUMO	xv
SUMMARY	xviii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Matéria-prima	4
2.1.1. Arroz	4
2.1.2. Banana	6
2.1.3. Mandioca	9
2.2. Fermentação	12
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1. Matéria-prima	23
3.2. Obtenção das farinhas	23
3.2.1. Farinha de arroz	23
3.2.2. Farinha de banana	24
3.3. Inóculo	25
3.4. Inoculação	25
3.5. Fermentação	26
3.6. Análises químicas	28
3.7. Ensaio biológico	29
3.8. Ensaio toxicológico	32
3.9. Técnica histológica	34

	Página
3.10. Análise estatística	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1. Farinhas	37
4.2. Análises químicas	38
4.2.1. Farinhas antes da fermentação	38
4.2.2. Farinhas durante fermentação	39
4.2.2.1. pH	39
4.2.2.2. Proteína	40
4.2.2.3. Carboidratos	49
4.2.2.4. Açúcares redutores	57
4.2.2.5. Lipídeos	58
4.2.2.6. Cinzas	66
4.2.2.7. Fibras	73
4.3. Aminoácidos	79
4.4. Ensaio biológico	80
4.5. Ensaio toxicológico	90
5. CONCLUSÕES	97
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99
APÊNDICE	109

LISTA DE FIGURAS

Figura nº	Página
1. Fermentador para meio semi-sólido	27
2. Teor protéico nas fermentações de farinha de <u>ar</u> roz, banana e mandioca com diferentes fungos ..	42
3. Teor protéico na fermentação de farinha de arroz com <i>Aspergillus niger</i>	43
4. Teor protéico na fermentação de farinha de <u>ba</u> <u>na</u> na com <i>Aspergillus niger</i>	44
5. Teor protéico na fermentação de farinha de <u>ar</u> roz com <i>Rhizopus oligosporus</i>	46
6. Teor protéico na fermentação de farinha de <u>ba</u> <u>na</u> na com <i>Rhizopus oligosporus</i>	46
7. Teor protéico na fermentação de farinha de man- dioca com <i>Rhizopus oligosporus</i>	47
8. Teor protéico na fermentação de farinha de <u>ar</u> roz com <i>Rhizopus oryzae</i>	48
9. Teor de carboidratos nas fermentações de fari- nha de arroz, banana e mandioca com diferentes fungos	50
10. Teor de carboidratos na fermentação de farinha de arroz com <i>Aspergillus niger</i>	52

Figura nº

11. Teor de carboidratos na fermentação de farinha de banana com <i>Aspergillus niger</i>	52
12. Teor de carboidratos na fermentação de farinha de mandioca com <i>Aspergillus niger</i>	53
13. Teor de carboidratos na fermentação de farinha de arroz com <i>Rhizopus oligosporus</i>	54
14. Teor de carboidratos na fermentação de farinha de mandioca com <i>Rhizopus oligosporus</i>	55
15. Teor de carboidratos na fermentação de farinha de banana com <i>Rhizopus oligosporus</i>	55
16. Teor de carboidratos na fermentação de farinha de arroz com <i>Rhizopus oryzae</i>	56
17. Teor de açúcares redutores nas fermentações de farinha de arroz, banana e mandioca com diferentes fungos	57
18. Teor de lipídeos nas fermentações de farinha de arroz, banana e mandioca com diferentes fungos.	60
19. Teor de lipídeos na fermentação de farinha de arroz com <i>Aspergillus niger</i>	62
20. Teor de lipídeos na fermentação de farinha de arroz com <i>Rhizopus oligosporus</i>	62

Figura nº

21. Teor de lipídeos na fermentação de farinha de arroz com <i>Rhizopus oryzae</i>	63
22. Teor de lipídeos na fermentação de farinha de mandioca com <i>Aspergillus niger</i>	65
23. Teor de lipídeos na fermentação de farinha de mandioca com <i>Rhizopus oligosporus</i>	65
24. Teor de cinzas nas fermentações de farinha de arroz, banana e mandioca com diferentes fungos.	67
25. Teor de cinzas na fermentação de farinha de arroz com <i>Aspergillus niger</i>	69
26. Teor de cinzas na fermentação de farinha de arroz com <i>Rhizopus oryzae</i>	69
27. Teor de cinzas na fermentação de farinha de arroz com <i>Rhizopus oligosporus</i>	70
28. Teor de cinzas na fermentação de farinha de <u>man</u> dioca com <i>Aspergillus niger</i>	72
29. Teor de cinzas na fermentação de farinha de <u>man</u> dioca com <i>Rhizopus oligosporus</i>	72
30. Teor de fibras nas fermentações de farinha de arroz, banana e mandioca com diferentes fungos.	74

Figura nº

31. Teor de fibras na fermentação de farinha de arroz com <i>Aspergillus niger</i>	75
32. Teor de fibras na fermentação de farinha de arroz com <i>Rhizopus oligosporus</i>	76
33. Teor de fibras na fermentação de farinha de mandioca com <i>Aspergillus niger</i>	78
34. Teor de fibras na fermentação de farinha de mandioca com <i>Rhizopus oligosporus</i>	78
35. Comparação de conteúdo de aminoácidos essenciais da farinha de arroz e farinha de arroz fermentado com <i>Rhizopus oligosporus</i> com a proteína padrão FAO-81	81
36. Peso dos animais (g/28 dias) dos tratamentos no ensaio biológico ao nível de 10% de proteína ..	85
37. Consumo protéico (g/semana) da dieta de farinha de arroz fermentado	86
38. Consumo protéico (g/semana) da dieta de farinha de arroz	87
39. Peso dos animais (g/semana) alimentados com farinha de arroz fermentado	88
40. Peso dos animais (g/semana) alimentados com farinha de arroz	89

Figura nº

41. Peso dos animais (g/semana) alimentados com <u>die</u> ta de caseína	89
42. Peso dos animais (g/semana) alimentados com <u>die</u> ta aprotéica	90

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela nº	
1. Composição química das farinhas de arroz, banana e mandioca em base seca	38
2. Valores do pH durante as fermentações	40
3. Perfil aminoacídico da farinha de arroz fermentada com o fungo <i>Rhizopus oligosporus</i> comparado com o padrão FAO-81.....	79
4. Composição química das dietas experimentais para o ensaio biológico ao nível de 10% de proteína .	80
5. Resultados da digestibilidade (D%), utilização protéica líquida (NPU%), valor biológico (VB), razão de eficiência protéica (PER) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) para as dietas experimentais e controle	83
6. Quantidade de ácido úrico em mg/100 ml de sangue em animais macho e fêmea alimentados com farinhas fermentadas durante os períodos de 30, 60 e 90 dias	91
7. Farinhas fermentadas, tempo de fermentação, quantidade de proteína das farinhas e das dietas empregadas no ensaio toxicológico	92

Tabela nº

8. Grau de esteatose hepática apresentado pelas diferentes dietas nos tempos de 30, 60 e 90 dias em ambos os sexos	93
9. Peso dos animais e consumo de dietas no ensaio toxicológico por dieta, sexo e período de tempo de 30, 60 e 90 dias	96

**ENRIQUECIMENTO PROTÉICO DAS FARINHAS DE ARROZ, BANANA
E MANDIOCA ATRAVÉS DE FERMENTAÇÃO SEMI-SÓLIDA COM
FUNGOS FILAMENTOSOS**

Autora: SOLANGE GUIDOLIN CANNIATTI BRAZACA

Orientadora: Prof.^a Dr.^a JOCELEM MASTRODI SALGADO

RESUMO

Foram desenvolvidos métodos de processamento para farinha de arroz e farinha de banana. Essas farinhas apresentaram cor e sabor característicos, sendo a farinha de banana uma boa opção para a conservação por um período mais longo.

Com o objetivo de aumentar o conteúdo protéico das farinhas de arroz, banana e mandioca, realizaram-se fermentações com os fungos *Aspergillus niger*, *Rhizopus oligosporus* e *Rhizopus oryzae*. A farinha de arroz foi inoculada com os três fungos e as farinhas de banana e de mandioca com os fungos *Aspergillus niger* e *Rhizopus oligosporus*.

Amostras nos tempos 0, 20, 30, 40, 60, 60, 70 e 80 horas, durante a fermentação, foram retiradas, secas em estufa e analisadas, quanto ao teor protéico e a composição em aminoácidos essenciais. A farinha de arroz inoculada com o fungo *Rhizopus oligosporus* apresentou maior teor protéico

após 50 horas de fermentação (21,01%). A composição dos aminoácidos da farinha de arroz apresentou como primeiro limitante a lisina (69,20%) e o segundo a treonina (87,33%). Após a fermentação o teor de lisina aumentou e os primeiros limitantes foram aminoácidos sulfurados, metionina e cisteína (76,03%), a treonina o segundo (91,03%) e a lisina o terceiro limitante (97,04%).

A farinha de banana não apresentou aumento considerável no teor protéico. Para a farinha de mandioca inoculada com *Rhizopus oligosporus*, o aumento no teor protéico foi maior do que para a inoculada com *Aspergillus niger*.

O melhor tempo de fermentação para produção protéica do fungo *A. niger* em todos os substratos testados foi de 40 horas, o mesmo ocorrendo para o fungo *R. oryzae* inoculado em farinha de arroz. Para o fungo *R. oligosporus*, o melhor tempo para farinha de mandioca foi de 40 horas e para a farinha de arroz e de banana foi de 50 horas.

Foi realizado ensaio biológico com a finalidade de verificar o valor biológico da proteína. No ensaio biológico foram testadas as dietas de farinha de arroz fermentada com *R. oligosporus* por 50 horas, farinha de arroz e a caseína como padrão.

Comparando a dieta de arroz com a dieta de arroz fermentada, observou-se que a dieta de arroz fermentada apresentou uma digestibilidade de 88,55%, maior do que a dieta de farinha de arroz (83,00%), porém o valor biológico (VB)

e a utilização protéica líquida (NPU) foi menor para a dieta de farinha de arroz fermentada.

Quimicamente, a farinha de arroz fermentada apresentou melhor resultado, com teor de proteína de 21,01% em comparação com a farinha de arroz (9,80%). Em termos de aminoácidos, a farinha de arroz fermentada também foi melhor que a farinha de arroz, limitando o aproveitamento da proteína em 23,97%, enquanto que a farinha de arroz limitou em 30,80%.

Os ratos submetidos a dieta com os substratos fermentados pelos fungos *R. oligosporus*, *A. niger* e *R. oryzae* não apresentaram toxicidade nos tecidos do baço, rins, intestinos delgado e grosso, porém no fígado, foram encontrados acúmulos de gordura (esteatose hepática) nas dietas com menores teores protéicos, ou seja, dieta de arroz com *A. niger*, farinha de banana com *R. oligosporus* e farinha de mandioca com *A. niger*. Os teores de ácido úrico no sangue dos animais foram normais.

**PROTEIC ENRICHMENT OF RICE, BANANA AND CASSAVA MEALS THROUGH
SEMI-SOLID FERMENTATION WITH FILAMENTOUS FUNGI**

Author: SOLANGE GUIDOLIN CANNIATTI BRAZACA
Adviser: Prof.^a Dr.^a JOCELEM MASTRODI SALGADO

SUMMARY

Processing methods for rice and banana meals were developed. These meals presented characteristic color and flavor, banana meal being a good option for its preservation for longer period of time.

In order to increase the proteic content of rice, banana and cassava meals, fermentations with *Aspergillus niger*, *Rhizopus oligosporus* and *Rhizopus oryzae* were performed. Rice meal was inoculated with those fungi but banana and cassava only with *A. niger* and *R. oligosporus*.

During fermentation samples were taken at the times of 0, 20, 30, 40, 50, 60, 70 and 80 hours. These samples were oven dried and further analysed. Rice meals inoculated with *R. oligosporus* presented a greater proteic content after 50 hours of fermentation (21,01%). The aminoacid compo

sition of rice meal had lysine (69,20%) and treonine (87,33%) the most limiting ones. After fermentation the lysine content increased and the more limiting were the sulfur aminoacids methionine and cystine (76,03%), treonine (91,03%) and lysine (97,04%).

Banana meal did not present and substantial proteic content. For the cassava meal inoculated with *R. oligosporus* the increase in proteic content was higher than for that inoculated with *A. niger*.

The best fermentation time for protein production by *A. niger* was 40 hours for all substrates tested, the same occurring for *R. oryzae* inoculated in rice meal. For *R. oligosporus*, the best times were 40 hours for cassava meal and 50 hours for rice and banana meals.

With the aim of verifying the biological value of the protein a bioassay was carried out. Diets which have been applied were rice meal fermented with *R. oligosporus* for 50 hours; rice meal; and casein being as controls. The fermented rice meal presents a higher digestibility (88,55%) than the rice meal (83,00%). However, the biological value and the net protein utilization for the fermented rice meal were lower than for the non fermented one.

Chemically, the fermented rice meal presented a better proteic content (21,01%) than the non fermented one (9,80%). Concerning aminoacids, the fermented rice meal

was better than non fermented one, limiting the proteic utilization by 23,97%, against 30,80% of the non fermented rice meal.

Rhizopus oligosporus, *A. niger* and *R. oryzae* did not present toxicity in small and large intestine tissues, spleen and kidney. However, in liver tissue fat accumulation was formed in diets with lower proteic contents, i.e., rice meal with *A. niger*, banana meal with *A. niger*, banana meal with *R. oligosporus* and cassava meal with *A. niger*. Uric acid contents of animal blood were normal for all treatments.

1. INTRODUÇÃO

Aumentar o suprimento de proteína para o consumo humano tem sido preocupação de muitos pesquisadores. Considerando as dificuldades da produção de proteína animal, uma opção próxima da realidade seria o aumento da produção e utilização das fontes de proteínas vegetais, através de melhoramentos genéticos das fontes convencionais, da utilização das fontes não convencionais e da procura de novas fontes, como a de microrganismos (PECHNIK & GUIMARÃES, 1962; THIEMANN, 1987).

Após a Segunda Grande Guerra, considerável desenvolvimento nos processos de obtenção de proteínas vem ocorrendo com a utilização de materiais que incluem açúcares simples, amidos, celulose, resíduos da agricultura, resíduos das indústrias de alimentos e hidrocarbonetos (LITCHFIELD, 1979; SHACKLADY, 1970; AZOULAY et alii, 1980). Dados recentes sugerem que as proteínas são um fator limitante para as populações, e que parte dessas populações está em regiões as quais são deficientes em proteínas mas com um abundante suplemento de carboidratos, os quais estão sob a forma de raízes amiláceas, resíduos de produtos amiláceos, excessos de produção que não são exportados ou não são aproveitados domesticamen-

te. Devemos considerar que em países desenvolvidos temos quantias substanciais de resíduos de materiais amiláceos (THIE-MANN, 1987).

Certos alimentos que constituem as principais produções agrícolas das regiões tropicais têm sido intensamente estudados num esforço para o desenvolvimento de seus potenciais como alimento (MATELES & TANNEMBAUM, 1968). Entre esses produtos encontramos a mandioca, a banana e o arroz que são produzidos em grande escala e bem aceitos pelos hábitos alimentares brasileiros. Estes produtos possuem um elevado teor de carboidratos e baixo teor protéico, portanto servem como alternativa para o uso em uma fermentação microbiana, na qual o nitrogênio não protéico é convertido em proteína microbiana.

As fermentações feitas por bactérias, fungos e leveduras têm sido utilizadas desde a antiguidade para preservar ou produzir alimentos.

Com a finalidade de aumentar o conteúdo protéico das farinhas de arroz, banana e mandioca, para melhorar o consumo de proteína, amenizando a situação de carência que sofre parte do povo brasileiro, é que nos propusemos a desenvolver esta pesquisa, tendo por objetivos: verificar o método de enriquecimento protéico por fermentação com fungos filamento-

tosos em farinha de arroz, banana e mandioca; verificar a qualidade nutricional através de análises químicas e ensaio biológico com animais de laboratório; avaliar o produto obtido quanto a sua toxicidade através de ensaio toxicológico.

2. REVISAO DE LITERATURA

2.1. MATÉRIA PRIMA

2.1.1. Arroz

O arroz é um alimento consumido pela maioria do povo brasileiro, incluindo todas as classes sócio-econômicas (SILVA, 1969).

Os trabalhos de pesquisas relacionados à cultura do arroz são, em sua grande maioria, direcionados para o aumento da produtividade e poucos se preocupam com a melhoria de seu valor nutritivo, através de melhoramento genético da cultura, especialmente em termos de quantidade e qualidade proteica. O arroz, mesmo contendo todos os aminoácidos essenciais, não os contém em quantidade ideal e o teor de proteínas é baixo, quando comparado com outros cereais (TEIXEIRA & AZZINI, 1976).

Como todos os cereais, o arroz, mesmo "in natura" é pobre em muitas substâncias indispensáveis a um regime alimentar. Esta deficiência natural é aumentada com o beneficiamento que causa perda de gordura, substâncias fosfatadas,

proteínas e vitaminas contidas no pericarpo, no germe e nas camadas de aleurona. Desta maneira, o consumidor tem um alimento de cor branca, aspecto uniforme, mas com seu valor nutritivo muito reduzido (SILVA, 1969).

Há no mercado diversos tipos de arroz, além do arroz branco consumido pela maioria das pessoas. Temos o arroz integral, semi-integral e o arroz pré-preparado ou pré-cozido. Este último, segundo RAO & JULIANO (1970), sofre alterações quanto às propriedades do amido. A parte predominantemente amilácea do grão é o albumem, o qual se constitui em amilopectina e amilose, havendo uma relação inversa entre o conteúdo de amilose e a maciez e cor (SILVA, 1969; 1970). Segundo SILVA (1969), o teor de proteína apresenta pequenas oscilações entre as diversas variedades e é influenciado pelas condições de fertilidade do solo onde foram cultivadas, sendo sua digestibilidade alta, atingindo 98% no arroz brunido.

Estudo realizado por PIZZINATO et alii (1972) apresentou bons resultados, quando a farinha de trigo foi substituída por farinha de arroz a nível de 10%, obtida a partir de quirera, no fabrico do pão francês, sem que houvesse redução no perfil de aminoácidos essenciais e nas características físicas do pão francês.

2.1.2. Banana

Na alimentação brasileira a banana tem um lugar especial, pois é uma das frutas mais populares no Brasil, sendo consumida de inúmeras maneiras (CASCUDO, 1983). A banana, na África é um alimento muito consumido e de grande importância (SIMMONDS, 1982).

No Brasil, o seu valor alimentício, o preço relativamente baixo no mercado interno e o fato de ser produzida o ano todo, contribuíram para que se tornasse um produto imprescindível no regime alimentar da população. Poderíamos citar, como exemplo, as áreas do litoral catarinense, cujas populações praianas têm na banana uma das bases de sua alimentação (ARAÚJO FILHO, 1957). No Estado de São Paulo temos também uma grande produção de banana, que é quase que totalmente exportada, nas cidades do Vale do Ribeira (Juquiã), Miracatu, Sete Barras e também em Itanhaém, na Baixada Santista (SANTOS, 1983). Segundo ARAÚJO FILHO (1957), a alimentação do homem litorâneo brasileiro se baseia na mandioca, peixe e banana.

A banana é essencialmente um alimento doce e de fácil digestão, apresentando uma digestibilidade de 54 a 80% quando fruta madura. Em frutas verdes há maior quantidade de amido e menos açúcares que nas frutas maduras, tendo em peso seco cerca de 27% de carboidratos totais (SIMMONDS, 1982).

Em países da África existem preparações à base

de bananas utilizadas rotineiramente, como em Uganda, onde são feitas preparações com bananas verdes e em Baganda, onde a banana vem sendo substituída por batata doce, mandioca e milho (SIMMONDS, 1982).

Quatro métodos são propostos para a preservação das bananas ou produtos de bananas: enlatamento, refrigeração, fermentação ácida e secagem (CRUESS, 1973).

O método de secagem é o mais importante na preservação das bananas, sendo a farinha de banana uma destas formas, pois a secagem ou desidratação da banana, a exemplo de outros alimentos, ocasiona a concentração das proteínas, gorduras e carboidratos e a destruição ou inativação de microrganismos deterioradores (CRUESS, 1973; SIMMONDS, 1982; VEIGA, 1963).

Segundo FONSECA et alii (1974), um dos grandes problemas no processamento da banana é a sua susceptibilidade de mudança de sabor e de cor.

Para preparações com bananas verdes, Von Loescke¹, citado por SIMMONDS (1982), sugere que sejam fumigadas com dióxido de enxofre para reduzir o escurecimento da banana durante a secagem. Para o preparo da farinha de banana propõe-se a secagem das frutas verdes descascadas após terem

¹ VON LOESESCKE, H. Bananas. New York, 1950.

sido passadas por um escaldamento, e para não sofrer escurecimento, devem receber gás de dióxido de enxofre por 20 a 25 minutos (WILSON, 1979). Pode ser utilizado ácido cítrico a 1% ou água ligeiramente salgada a fim de evitar escurecimento (VEIGA, 1963). Após esse procedimento, as frutas são levadas para secadores, até ficarem quebradiças, e posteriormente moídas e peneiradas, obtendo-se, assim, a farinha de banana (CRUESS, 1973).

A farinha de banana caracteriza-se pelo alto conteúdo de amido. Para a obtenção da farinha são preferíveis os frutos mais ricos em amido, que são as frutas verdes, mas completamente desenvolvidas, com tom verde claro característico, evitando que a farinha obtida apresente gosto adstringente devido ao conteúdo de tanino (VEIGA, 1963; WILSON, 1979). As frutas maduras requerem técnicas de manufatura mais avançadas, com a secagem em câmaras, onde há alta evaporação, efetuando-se a secagem rapidamente em temperaturas mais baixas, pois as frutas maduras estão mais sujeitas à oxidação, inversão de açúcares, caramelização e carbonização (VEIGA, 1963).

A colheita e o transporte precisam ser efetuados com cuidado para evitar qualquer machucadura, que poderá resultar em farinha mais escura. A eliminação da parte central das frutas também facilita a obtenção de farinhas mais claras (VEIGA, 1963).

Segundo BORZANI (1963), a farinha de banana à venda no comércio apresenta teores apreciáveis de amido (84,2%). A composição da farinha de banana, segundo VEIGA (1963) é de 8 a 12% de umidade; 56 a 70% de amido; 3,5% de proteína; 1,5% de matéria graxa; 2,0% de açúcares redutores medidos como sacarose; 3,5% de cinzas; 7,0% de tanino, além de matéria fibrosa. O rendimento encontrado por SILVEIRA (1946) para a farinha de banana, baseado no peso fresco da fruta descascada, foi de 20 a 30%.

Na África preparam-se bebidas a partir de bananas verdes e leveduras (SIMMONDS, 1982).

2.1.3. Mandioca

Antes da descoberta da América, a mandioca não era conhecida em outras partes do mundo. Há evidências arqueológicas indicando que os dois maiores centros de origem da mandioca foram o México e a América Central, e outro no Nordeste do Brasil (GRACE, 1971). Segundo ALBUQUERQUE (1969), há controvérsias se a origem da mandioca se deu na África ou Ásia ou ainda nas Ilhas do Pacífico. Atualmente, em todas as regiões tropicais do mundo, a mandioca é cultivada, constituindo-se, em várias delas, a principal fonte de subsistência.

A mandioca, desde a colonização do Brasil, foi

de grande importância na alimentação dos nativos e europeus recém-chegados ao Brasil (CASCUDO, 1983).

Segundo MARTIN (1971), em muitos países tropicais a mandioca é a principal fonte de carboidratos, ocupando, na dieta a mesma posição que as batatas ocupam em zonas temperadas. Durante a última Grande Guerra, a mandioca assumiu importância relevante com a carestia dos alimentos em muitas partes do mundo, especialmente quando o arroz vinha do exterior (GRACE, 1971).

A mandioca (*Manihot esculenta* Cratz) é uma planta nativa do Brasil, cultivada em aproximadamente 90 países, sendo que, em pelo menos 14 deles, ela é utilizada na alimentação humana, constituindo-se o alimento básico de 200 milhões de pessoas (CONCEIÇÃO, 1987).

No Brasil, é cultivada em quase todo o território, mas geralmente de forma primitiva (PETROBRÁS FERTILIZANTES, A.D.). Mesmo assim, o Brasil é o maior produtor mundial de mandioca, tendo na região Nordeste a sua maior produção, com uma participação de 52,9% da produção do país (REIS, 1987).

A mandioca é rica em carboidratos, contendo uma grande porcentagem de amido, possui uma pequena quantidade de proteína e gordura. Para uma dieta balanceada a base de mandioca é necessário a complementação com proteína animal ou produto como a soja. Dessa forma, as deficiências nu

tritivas da mandioca não causam preocupação, quando consumida com outros alimentos suplementares. O consumo de mandioca é maior nas camadas de baixa renda, sem recursos para adquirir outros alimentos nutricionalmente mais completos. Desse modo, consomem um grande volume de mandioca para suprir as necessidades calóricas, não suprimindo, entretanto, as necessidades protéicas e de vitaminas (GRACE, 1971). Segundo SALES (1982), a adição de um componente protéico à farinha de mandioca é tecnicamente viável, mas ainda não foi encontrada uma solução para a implantação de um programa de enriquecimento protéico da mandioca.

O amido de mandioca tem um alto teor de amilopectinao que é desejável na característica de um amido com fins industriais, devido à característica de viscosidade, sendo o seu gel relativamente estável, não ocorrendo sua retrogradação (OKEZIE & KOSIKOWSKI, 1982).

Entre os produtos industriais feitos a partir da mandioca, nós temos a farinha de mandioca ou a chamada farinha de mesa, um dos produtos mais fabricados no Brasil e quase que totalmente destinado à alimentação humana, principalmente das populações de menor poder aquisitivo das regiões Norte e Nordeste (CONCEIÇÃO, 1987; SILVA & AMARAL, 1985). O seu consumo total interno em 1981 estava em torno de 5,6 milhões de toneladas, com um consumo "per capita" de 55,9 kg/ano (VILELA & JUSTE, 1987).

No Brasil existem cerca de 200 mil casas de farinha que beneficiam diretamente cinco milhões de pessoas. O produtor de farinha, geralmente de baixa renda, conta com a mão-de-obra de sua família, suficiente para as operações necessárias à elaboração da farinha, sendo bem rudimentar o sistema empregado, diferindo nada ou pouco do utilizado pelos silvícolas (SILVA & AMARAL, 1985). Devido a esta rusticidade no sistema de fabricação da farinha de mandioca, não existe em certas regiões um produto de qualidade melhorada sob o ponto de vista de seu valor nutritivo (CONCEIÇÃO, 1987). Há também o processo industrial, onde se enquadram principalmente as farinhas torradas. Os padrões de qualidade que relacionam cor, granulometria e as características próprias, após o processamento, variam muito, apesar das normas estabelecidas pela legislação, sendo que a maior parte dos produtos é indicada e recebe as mais variadas classificações de acordo com critérios próprios dos fabricantes (CONCEIÇÃO, 1987; INGRAM, 1975; VILELA & JUSTE, 1987).

A farinha de mandioca já foi empregada na panificação em mistura com a farinha de trigo, a fim de minimizar os custos de fabricação de pães (BRANDÃO, 1936; EL-DASH, 1987).

2.2. FERMENTAÇÃO

As fermentações semi-sólidas têm sido definidas como qualquer processo fermentativo, onde o substrato não

é líquido, e onde o desenvolvimento do microrganismo se dá na superfície de materiais sólidos e na ausência de água livre. A técnica de produzir substâncias de interesse econômico, utilizando materiais semi-sólidos umedecidos com água e inoculados com certos tipos de microrganismos, é, sem dúvida, o método mais antigo utilizado pelo homem para aproveitar-se das propriedades biossintéticas dos microrganismos (THIEMANN, 1987).

Em comparação com a fermentação líquida a semi-sólida tem as vantagens de: seus equipamentos ocuparem espaços bem menores, os contaminantes do ambiente serem inexistentes ou reduzidos, dispensarem em certos casos, a etapa de extração e concentração do produto. Além disso, pode o produto ser utilizado diretamente ou após secagem do substrato, a composição dos meios são relativamente simples, há um baixo consumo de energia, baixas taxas de aeração, a tecnologia é pouco sofisticada, os investimentos são reduzidos, e o processo extrativo simplificado e de baixa taxa de poluição. Em compensação, apresenta certas desvantagens como: a limitação dos microrganismos a serem utilizados, pois têm que ter capacidade de crescer com baixos teores de umidade (fungos filamentosos); necessidade de volumes relativamente grandes de inóculo, dificuldade de realização do controle do processo fermentativo (pH, temperatura, umidade, crescimento celular e síntese) e pouca disponibilidade de dados técnicos. O Japão possui a tecnologia mais avançada, porém os dados relevantes são difíceis de se obter e geralmente são de caráter confidencial (THIEMANN, 1987).

Em fermentação de farelo de soja, de farinha de mandioca, fubã e farelinho de arroz (a pH de 4,5, umidade de 60%, temperatura de 35°C a 37°C) durante 24 horas, com o fungo *Rhizopus oligosporus*, NAHAS & MACHADO (1982) conseguiram obter um produto semelhante ao "temph", diferindo deste pela sua textura mais macia e pelo seu odor.

A fermentação semi-sólida da mandioca, com o objetivo de aumentar o seu conteúdo protéico, tem sido estudada com base no processo usado na Indonésia para a fermentação do "tempeh". Neste processo, o resultado final é a síntese a partir do amido da mandioca e do nitrogênio inorgânico, sendo utilizados os fungos *Rhizopus oligosporus* e *Rhizopus stolonifer*. Esses fungos foram utilizados em meio contendo raspas de mandioca, adicionado de uréia, fosfato de potássio, outros macronutrientes e água para se obter uma massa de 43 a 45% de umidade. A massa inoculada foi colocada em bandejas para fermentar a 30°C com umidade relativa do ar de 90-97%. Após 40 a 80 horas de fermentação o teor protéico máximo foi de 3% (BROOK et alii, 1969).

Uma vez que os dados apresentados por BROOK et alii (1969) não foram suficientes para avaliar a eficiência de conversão de amido em proteína, TREVELYAN (1974) reinvestigou o crescimento do fungo em meio semi-sólido de mandioca, visando determinar o nível de proteína fúngica que poderia ser obtido e a eficiência de conversão da mandioca em proteína fúngica. As experiências foram realizadas com *Rhizopus*

oryzae encontrando-se um teor máximo de proteína de 5,8% em base seca, obtendo-se um rendimento de 23 a 35 gramas de micélio por 100 gramas de substrato utilizado.

Possivelmente os resultados mais promissores relativos à produção de proteína fúngica em substrato semi-sólido de mandioca foram relatados por SENEZ (1979). Segundo esse pesquisador, a distribuição homogênea de esporos e solução nutriente, assim como a porosidade da massa de mandioca, juntamente com uma aeração adequada, são essenciais para a obtenção de um rápido crescimento micelial através da massa. Uma farinha grossa de mandioca com 30 a 35% de umidade foi acrescida de sais nutrientes, inoculada com *Aspergillus niger*, o qual possui alta atividade amilolítica. No final do período de fermentação, foi obtido um produto, apresentando em base seca 18 a 20% de proteína e 25 a 30% de açúcares residuais.

A fermentação semi-sólida pode restringir as trocas gasosas, mas usualmente promove um abundante suprimento de nutrientes. Embora não haja difusão em meio semi-sólido para os fungos filamentosos, isto não é problema, uma vez que podem atingir o substrato que desejam pelo crescimento dos micélios. As taxas máximas de crescimento são alcançadas, quando o crescimento não é restringido pela característica do organismo em ter disponibilidade de nutrientes. Uma redução na taxa de crescimento pode ser ocasionada pela limitação no suprimento de algum nutriente essencial (BERRY, 1975).

DAUBRESSE et alii (1987) desenvolveram em laboratório e testaram em plantas-piloto em Burundi na África Central, o enriquecimento protéico de mandioca na forma "chips" por fermentação semi-sólida com *Rhizopus oryzae*. Inicialmente a mandioca foi aquecida a 40°C para a gelatinização do amido e colocaram-se, para cada 100 gramas de mandioca, 3,4 gramas de uréia, 1,5 gramas de fosfato de potássio (KH_2PO_4) 0,8 gramas de sulfato de magnésio hidratado ($\text{MgSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$) e 22,7 gramas de ácido cítrico. A massa com aproximadamente 60% de umidade, foi inoculada e espalhada em camadas em bandejas perfuradas sendo aerada com ar umidificado, por um período de incubação de mais ou menos 65 horas. Obtiveram um aumento na proteína de 1% para 10,7% em base seca. Para a determinação da proteína foi utilizado o método de Kjeldahl, usando hidróxido cúprico (sulfato de cobre e meio alcalino) para precipitar proteína e determiná-la em termos de material nitrogenado real total (TRNM).

Um experimento semelhante foi desenvolvido por GREGORY et alii (1976) só que com fungos filamentosos termotolerantes e amilolíticos, os quais se desenvolveram em meio de mandioca, a uma temperatura de 45 a 50°C e pH de 3,5. Nessas condições, o valor nutricional das dietas contendo o micélio fúngico do fungo foram inferiores ao da caseína. Posteriormente, quando as dietas de micélio fúngico foram suplementadas com metionina, a eficiência protéica e o NPU (Net Protein Utilization) foram somente um pouco inferior ao obtido pela caseína, em dietas ao nível de 10% de proteína.

A influência do pH no crescimento e metabolismo do fungo é complexa. Os fungos são caracteristicamente tolerantes a pH baixo e pode ter pH ótimo entre 5 a 7 para o seu crescimento, o que ajuda na prevenção à contaminação com bactérias (BERRY, 1975). WOOD & MIN (1975) citam que em produtos orientais que utilizam *Rhizopus oligosporus* durante a fermentação há a produção de um antibiótico ativo contra muitas bactérias gram-positivas, incluindo algumas típicas intestinais como *Clostridia*. A descrição do preparo de um dos muitos produtos orientais fermentados, o "tempeh", que envolve espécies de *Rhizopus* sp., fermentando grãos de soja, é feita por MARTINELLI FILHO & HESSELTINE (1964). Outro produto tradicional, na Nigéria, com mandioca fermentada é o gari (COLLARD, 1959). Nes produto tradicional de fermentação semi-sólida OKEZIE & KOSIKOWSKI (1981) fizeram um enriquecimento com soro de leite em pó para melhorar suas qualidades nutricionais, uma vez que no mínimo 80% da população da Nigéria consome o gari uma vez por dia.

Segundo SOLOMONDS (1973), a quantidade de proteína verdadeira encontrada no micélio fúngico foi de 50%, sob condições ótimas de crescimento. A composição em aminoácidos da proteína fúngica, comparada à gema do ovo, apresentou um "score" químico de 74. A proteína verdadeira disponível foi alta, a disponibilidade da lisina ficou entre 95.100% em ensaio biológico feito em pintinhos. Em ensaio biológico feito com ratos, a digestibilidade total do nitrogênio foi de 83%. ZAMO-

RA & VEUM (1988), em um ensaio biológico com porcos recém-nascidos, para verificar o valor nutricional da soja fermentada com *Rhizopus oligosporus* e *Aspergillus oryzae*, constataram que não houve diferença quanto ao valor energético e protéico quando comparada à soja cozida. Já segundo WORGAN (1973), muitos microrganismos produzem grande quantidade de biomassa celular, só que com baixo valor biológico, sendo que GREGORY et alii (1976) constataram que dietas com fungos foram todas inferiores à dieta de caseína quanto ao ensaio biológico, mesmo quando as dietas foram suplementadas com metionina ou quando as comparações foram baseadas na proteína bruta (total de nitrogênio x 6,25). Mesmo os fungos produzindo proteína de melhor qualidade do que as leveduras e bactérias, ainda é uma proteína deficiente. A digestibilidade da proteína fúngica é alta, aproximadamente 93% (SPICER, 1971).

Na África, em Burundi, foram encontrados teores de 11% de proteína em pequenas unidades piloto de fermentação de mandioca com *Rhizopus oryzae*, sem apresentar problemas aparentes de controle da fermentação (DAUBRESSE et alii, 1987).

Segundo LITCHFIELD (1979), é necessário suplementação com DL-metionina para obter satisfatória performance com fungos.

A gelatinização do amido de mandioca, segundo TREVELYAN (1974), aumenta a susceptibilidade ao ataque das en

zimas fúngicas, especialmente glicoamilase e as amilases, sendo esta gelatinização feita por aquecimento. A esterilização da farinha de mandioca não deve ser feita, pois após esterilização o amido apresenta-se em situação não usual, na qual o meio contém uma alta concentração de polímeros de baixo peso molecular no lugar dos tradicionais constituintes macromoleculares. Porém, não sendo feita a esterilização, o microrganismo escolhido deve ser dominante, como espécie de *Rhizopus* sp. ou outro microrganismo.

Foram testadas por TREVELYAN (1974) diferentes quantidades de esporos de *Rhizopus oryzae* inoculados em farinha de mandioca. Com 10^7 esporos/grama de farinha, obteve-se um produto com cheiro alcoólico acentuado; com 10^5 esporos/grama de farinha ocorreu grande esporulação (o que não é desejável); com 10^6 esporos/grama de farinha foram obtidos bons resultados, obtendo-se 20% a mais de produção de proteína micelial.

DAUBRESSE et alii (1987) constataram que há necessidade de introduzir sais ao meio de mandioca para a fermentação, porque senão o aumento protéico não é significativo. A colocação de sais no meio, como a uréia, por exemplo, já tinha sido citado por READE & GREGORY (1975) para ser utilizada tanto como fonte de nitrogênio como para controle de pH. Este controle torna-se de vital importância, quando se considera que estamos tratando de fermentação semi-sólida em que, normalmente, o pH não é corrigido durante o processo de fermentação.

tação, pela impossibilidade de se obter uma adequada homogeneização do material. Rimbault², citado por THIEMANN (1987) aplicou com sucesso a técnica por ele denominada de "controle autógeno do pH", incorporando ao meio misturas de sulfato de amônio e uréia.

Testando três níveis de uréia na fermentação semi-sólida de mandioca com *Rhizopus oryzae*, DAUBRESSE et alii (1987) verificaram que 4,5 gramas de uréia para 100 gramas de farinha de mandioca apresentaram os melhores resultados para produção de proteína, quando comparado com os níveis de 2,2 g/100 g ou 6,8 g/100 g de farinha. Quando foram colocados 4,5% de uréia, obteve-se também um restante de nitrogênio não utilizado de 19-20%, sendo que, quando foram empregados 2,2% de uréia, somente traços de uréia foram encontrados após a fermentação.

Em fermentações semi-sólidas devem ser empregados substratos porosos e granulados, de espessura reduzida, com espaços intersticiais e bandejas perfuradas, a fim de facilitar a aeração (transferência de oxigênio) (THIEMANN, 1987).

Outro fator a ser levado em consideração é a temperatura ótima para crescimento do fungo que está sendo empregado na fermentação. De maneira geral, a melhor faixa é

² RAIMBAULT, M. Fermentation en milieu solid. Paris, ORSTOM, 1981.

de 25 a 36°C, porém, outros fungos crescem bem em temperaturas mais altas como, por exemplo, *Aspergillus niger* que cresce melhor a temperatura superior a 36°C (LITCHFIELD, 1979).

Os esporos que podem aparecer na fermentação não são desejáveis, devido à conservação posterior do produto e a aparência. DAUBRESSE et alii (1987), pesquisaram qual o tempo para a formação de esporos de *Rhizopus oryzae* inoculados em farinha de mandioca com amido gelatinizado, enriquecida com sais minerais e verificaram que o tempo necessário para começarem a aparecer os esporos foi de 96 horas.

Nas fermentações semi-sólidas ocorre a produção de diversas enzimas pelo fungo a fim de poder obter os elementos necessários para o seu crescimento e manutenção. Estudos feitos por HESSELTINE (1965), WANG & HESSELTINE (1966) e TREVELYAN (1974) mostraram a necessidade dessas enzimas. A produção de enzimas nos substratos aumentou a digestibilidade do mesmo, como na produção de "tempeh" onde *Rhizopus* sp. causam as quebras de proteínas de soja e o gênero *Aspergillus* sp. hidrolizam o amido do arroz em outros produtos orientais. No "tempeh" o fungo *Rhizopus oryzae* tem capacidade de produzir amilase maior que *Rhizopus oligosporus*, entretanto, *Rhizopus oligosporus* produz uma quantidade considerável de protease que é importante na quebra das proteínas da soja (HESSELTINE, 1965). A enzima proteolítica foi produzida a um pH 5,5 por *Rhizopus oligosporus*, sendo este o pH ideal para a produção desta enzima em um meio de trigo (WANG & HESSELTINE, 1966).

TREVELYAN (1974) sugere que os fungos *Rhizopus oryzae* e *Rhizopus oligosporus* são bons produtores de amilase, portanto, melhores adaptados a substratos amiláceos, tal como a mandioca.

A proteína fúngica obtida na fermentação já foi testada em muitas variedades de animais de laboratório, tendo mostrado ser totalmente livre de efeitos carcinogênicos e teratogênicos (SPICER, 1971). No entanto, MIALL (1975) e SOLOMONS (1973) observaram em seus laboratórios um único fungo, *Alternaria* sp., que produziu toxidez aguda em ratos.

Em estudos desenvolvidos por READE & GREGORY (1975), com mandioca e fungos filamentosos, foram executados exames clínicos e histológicos nos animais que receberam dieta, contendo *Aspergillus fumigatus* I-21A e a dieta controle de soja. Entretanto, não foi constatada nenhuma indicação de que as dietas fossem prejudiciais para esses animais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. MATÉRIA PRIMA

O arroz (*Oryza sativa* L.) do tipo agulhinha nú₂mero dois e a banana nanica verde (*Musa cavendishii* L.) foram obtidos no mercado local. A mandioca não foi processada no laboratório, sendo a farinha de mandioca adquirida também no comércio de Piracicaba-SP.

3.2. OBTENÇÃO DAS FARINHAS

3.2.1. Farinha de arroz

A farinha de arroz foi obtida colocando-se 1 kg de arroz lavado com dois litros de água destilada em uma panela de alumínio com capacidade de 5 litros. A panela foi levada ao fogo alto por 20 minutos para o cozimento dos grãos de arroz. Após o cozimento, a panela permaneceu tampada por mais 20 minutos e, após este período, o arroz foi uniformemente espalhado em bandejas de alumínio e colocado em estufa com circulação de ar a 55°C até peso constante (24 horas). Poste-

riormente esse material foi moído em moinho de facas, peneirado em peneira de malha com 30 "mesh" (1,8 mm), obtendo-se assim a farinha de arroz.

3.2.2. Farinha de banana

Para o preparo da farinha de banana utilizaram-se bananas verdes, como sugerido por WILSON (1979), e o método proposto por FONSECA et alii (1974) com modificações.

FONSECA et alii (1976) constataram que o teor de metabissulfito de potássio utilizado para o não escurecimento da banana não deixou resíduo que fosse maior do que o limite estabelecido pela Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos.

A banana verde foi colocada em água a 85°C por 10 minutos. Em seguida retiraram-se as cascas da banana cortando-as longitudinalmente em quatro partes, as quais foram colocadas em água destilada com metabissulfito de sódio a 2% por 15 minutos para evitar escurecimento. Após este tempo, os pedaços foram escorridos e colocados em bandejas de alumínio, secos em estufa de circulação de ar forçado a 55°C, até se obter um peso constante (aproximadamente 36 horas). Os pedaços de banana foram quebrados em pedaços menores com as mãos, batidos em liquidificador industrial, sendo separado, nesta fase, aproximadamente 20% da farinha de banana. O restante foi moído em moinho de facas e passado por peneira de 30 "mesh" (1,8 mm).

3.3. INÓCULO

Foram utilizados fungos filamentosos com capacidade amilolítica: *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae* e *Aspergillus niger* cedidos pelo Instituto Zimotécnico do Departamento de Tecnologia Rural da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo. Estes fungos foram mantidos em meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) e os inóculos puros, em óleo mineral. Os tubos inclinados contendo BDA foram inoculados com os isolados de *Rhizopus oryzae* e *Rhizopus oligosporus*, sendo essas culturas incubadas por cinco dias e os isolados de *Aspergillus niger* incubados por dez dias, a fim de produzirem os esporos. Os esporos foram suspensos em água destilada esterilizada.

A farinha de arroz foi inoculada com os fungos *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus oligosporus* e *Aspergillus niger*. As farinhas de banana e mandioca foram inoculadas com *Rhizopus oligosporus* e *Aspergillus niger*.

3.4. INOCULAÇÃO

A farinha de mandioca, antes da inoculação, foi submetida a vapor d'água por 15 minutos, a fim de gelatinizar o amido. Para isso, a farinha de mandioca foi colocada em uma peneira com malha mais fina e esta, sob uma panela de alumínio com água em ebulição, mexendo-se de tempo em tempo (três em três minutos).

Após o crescimento e esporulação dos fungos em tubos de BDA inclinado, os esporos foram suspensos em água destilada esterilizada e foi feita a contagem pela técnica do hemocitômetro, sendo que para cada grama de farinha foram utilizados 2×10^7 esporos. Em 100 g de farinha foram adicionados 9 gramas de sulfato de amônio, 2,7 gramas de uréia como fonte de nitrogênio e 5 gramas de fosfato de potássio. A umidade do material foi acertada a 60% com água destilada esterilizada e o pH inicial da mistura foi de 4,5, acertado com ácido cítrico 10% (READ & GREGORY, 1975).

3.5. FERMENTAÇÃO

As farinhas inoculadas foram colocadas em peneira de 60 mesh que se acoplava a um banho-maria, sem que tocasse a superfície da água com uma tampa com perfuração central, pela qual passava uma mangueira de ar impulsionado por uma bomba de aquário (Figura 1)

Nas farinhas inoculadas foram retiradas amostras para observar os melhores tempos de incubação, sendo retiradas amostras nos tempos 20, 30, 40, 50, 60, 70 e 80 horas. A temperatura foi mantida entre 35-45°C e a umidade mantida pelo vapor de água e com entrada de ar.

Nas amostras, após o período de incubação, foram mantidos os pH e a seguir foram colocadas em bandejas de

alumínio para secagem em estufa com circulação de ar a 55°C , sendo posteriormente moídas e armazenadas em geladeira a 4°C , até serem feitas as análises químicas.

3.6. ANÁLISES QUÍMICAS

Foram feitas análises químicas nas farinhas de arroz, banana e mandioca, antes e após inoculação, em todas as amostras retiradas, de acordo com a metodologia indicada pela AOAC (1975) para umidade, cinzas, fibras e extrato etéreo. A determinação de carboidratos totais foi feita pelo método fenol-sulfúrico, segundo DUBOIS et alii (1956), tendo sido as amostras preparadas de acordo com o proposto por MCCREADY et alii (1950). A determinação de açúcares redutores foi feita pelo método de SOMOGYI-NELSON (SOMOGYI, 1945) e a determinação de proteína foi feita pelo método de LOWRY et alii (1951). Também foi utilizado NaOH 0,1N e ácido tricloroacético a 5% com a finalidade de retirar o nitrogênio não protéico, antes de se proceder à digestão e destilação em Micro Kjeldahl (AOAC, 1975).

O perfil dos aminoácidos da farinha foi determinado em analisador automático (Beckman Aminoacid Analyser), usando as técnicas descritas para esse tipo de análise. O triptofano foi determinado pela hidrólise alcalina de HUGLI & MOORE (1972), a cisteína pelo procedimento do ácido cistéico de MOORE (1963) e a lisina pelo método de KAKADE & LIENER (1969). Comparando os valores obtidos com a proteína padrão a FAO

(1981), foi obtido o "score" de aminoácidos (EAA), conforme a fórmula abaixo:

$$EAA = \frac{\text{mg de aminoácido da proteína testada}}{\text{mg de aminoácido da proteína padrão FAO-81}} \times 100$$

A determinação de ácido úrico no sangue dos animais foi feita pelo teste de combinação Úrica-Quant^r da Merck, através do método colorimétrico enzimático (KAGEYAMA, 1971).

As dietas preparadas para o ensaio biológico e toxicológico foram analisadas bromatologicamente pelos métodos da AOAC (1975) em termos de cinzas, extrato etéreo, fibra e umidade, sendo que a quantidade protéica foi determinada por LOWRY et alii (1951) e os carboidratos por diferenças.

3.7. ENSAIO BIOLÓGICO

Foi utilizado no presente trabalho *Rattus norvegicus* variedade *albinus*, linhagem Wistar obtido de cruzamentos sucessivos no biotério do Setor de Nutrição Humana e Alimentos da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo. Os animais tinham 21-23 dias de idade com uma variação em peso não mais de 5%. Cada grupo composto por 4 animais constituiu-se um bloco no total de 6 blocos nos quais cada rato recebeu um tratamento como se detalha a seguir:

Tratamento I: Farinha de arroz fermentada com *Rhizopus oligosporus* com 50 horas de fermentação;

Tratamento II: Farinha de arroz

Tratamento III: Caseína

Tratamento IV: Aprotéica

Os animais permaneceram em gaiolas individuais, receberam alimentos "ad libitum", sendo o peso e o consumo dos alimentos registrados três vezes por semana durante os 28 dias de duração do experimento. As fezes totais excretadas pelos ratos foram coletadas todos os dias do experimento, secas em estufa a 105°C durante 72 horas, moídas e pesadas. Uma amostra total de cada grupo foi retirada para analisar teor de nitrogênio, a fim de se calcular a digestibilidade. No 28º dia do experimento, após jejum de 12 horas, todos os animais foram sacrificados. As cavidades abdominal, torácica e craniana foram abertas e secas em estufa a 105°C, até peso constante (aproximadamente 72 horas). Os animais foram moídos e o nitrogênio da carcaça foi determinado para o cálculo do NPU (Net Protein Utilization).

O nitrogênio das fezes e das carcaças foi determinado pela técnica descrita pela AOAC (1975).

A formulação de todas as dietas foi feita de acordo com o estabelecido pela AOAC (1975), ou seja, ao nível de 10% de proteína, 8% de óleo de milho, 4% de mistura sali-

na, 1% de mistura vitamínica e completada até 100% com amido de milho (maizena). Porém, a dieta de farinha de arroz, sem ser enriquecida com fungo, teve um teor protéico de 9,7%, não sendo, portanto, utilizado amido de milho nesta dieta.

A fim de corrigir a proteína consumida e eliminada, incluiu-se uma dieta aprotéica, para cálculo da digestibilidade e NPU (Net Protein Utilization).

Os cálculos foram feitos da seguinte forma:

Digestibilidade % (D%):

$$D\% = \frac{\text{proteína consumida (24 hs)} - \text{proteína excretada (24 hs)} - \text{proteína excretada pelo grupo aprotéico (24 hs)}}{\text{proteína consumida (24 hs)}}$$

Utilização Protéica Líquida (NPU):

$$NPU = \frac{[B_f - (B_k + I_k)]}{I_f} \times 100$$

onde:

B_f = nitrogênio da caracaça do grupo experimental

I_f = nitrogênio ingerido

B_k = nitrogênio da caracaça do grupo aprotéico

I_k = nitrogênio ingerido pelo grupo aprotéico

(MILLER & BENDER, 1955)

Valor Biológico (VB) :

$$VB = \frac{NPU}{D} \times 100$$

Razão de Eficiência Protéica (PER) :

$$PER = \frac{\text{ganho de peso em gramas}}{\text{proteína ingerida em gramas}}$$

(OSBORNE et alii, 1919)

Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA) :

$$CEA = \frac{\text{ganho de peso (gramas)}}{\text{consumo de ração (gramas)}}$$

3.8. ENSAIO TOXICOLÓGICO

Para este ensaio, foi utilizado *Rattus norvegicus*, variedade *albinus* linhagem Wistar obtido de cruzamentos no biotério do Setor de Nutrição Humana e Alimentos da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo. Foram empregados animais recém-desmamados com idade de 21 a 23 dias, com uma variação de peso não mais que 5%. Cada tratamento foi composto por oito animais, sendo quatro machos e quatro fêmeas, recebendo cada grupo uma dieta específica. Os tratamentos foram os seguintes:

- Tratamento** I: Farinha de arroz com *A. niger* 40 h de fermentação
- Tratamento** II: Farinha de arroz com *R. oligosporus* 50 h de fermentação
- Tratamento** III: Farinha de arroz com *R. oryzae* 40 h de fermentação
- Tratamento** IV: Farinha de banana com *A. niger* 40 h de fermentação
- Tratamento** V: Farinha de banana com *R. oligosporus* 50 h de fermentação
- Tratamento** VI: Farinha de mandioca com *A. niger* 40 h de fermentação
- Tratamento** VII: Farinha de mandioca com *R. oligosporus* 40 h de fermentação
- Tratamento** VIII: Caseína (controle)

As dietas para este ensaio foram preparadas conforme AOAC (1975).

Cada animal ficou em gaiola individual, sendo controlado o consumo de ração e o peso dos animais três vezes por semana. Após 30 dias do início do experimento, dois animais de cada tratamento, um macho e uma fêmea, foram sacrificados, sendo retirado o sangue para análise de ácido úrico. O fígado, os rins, o baço, um pedaço do intestino delgado e um pedaço do intestino grosso foram retirados para se proceder a exames histológicos para verificar se estava ocorrendo alguma modificação a nível celular. Aos 60 e 90 dias, os mesmos procedimentos foram executados.

3.9. TÉCNICA HISTOLÓGICA

Os órgãos foram retirados dos animais e colocados em solução de formol/álcool 80% para fixação. Os órgãos foram desidratados através de banho em baterias de concentrações crescentes de álcool etílico (etanol) iniciando com álcool 50% e terminando com álcool absoluto. Após este tratamento, foi empregado xilol-parafina (50%) em estufa a 60°C e feitos os blocos com parafina líquida. Os blocos foram cortados, em micrótomo, com espessura de 5 µm. A parafina foi retirada do tecido através de tratamento com xilol e foi feita hidratação, começando com álcool absoluto e chegando a álcool 50%. Fez-se a coloração com hematoxilina-eosina e, após a coloração, desidratação com concentrações crescentes de álcool, colocou-se xilol para a montagem da lâmina que foi colocada em estufa a 40°C por 4 horas. Após este processo, as lâminas foram observadas ao microscópio óptico na Área de Patologia do Departamento de Diagnóstico Oral da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade de Campinas.

3.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para as análises químicas foi empregada a técnica de análise de variância para delineamento inteiramente ao acaso, com parcelas subdivididas. Para verificar o melhor substrato e o melhor fungo, utilizaram-se comparações múlti-

plas, aplicando o teste F para contrastes. Para comparar os substratos com os diferentes fungos foram desdobrados os graus de liberdade dos tratamentos nos seguintes contrastes ortogonais:

Contraste 1 = $(AA + AB + AC)$ vs $(BA + BB + MA + MB)$

Contraste 2 = $(AA + AB)$ vs AC

Contraste 3 = $AA - AB$

Contraste 4 = $(BA + BB)$ vs $(MA + MB)$

Contraste 5 = $BA - BB$

Contraste 6 = $MA - MB$

onde:

AA = farinha de arroz fermentada com *Aspergillus niger*

AB = farinha de arroz fermentada com *Rhizopus oligosporus*

AC = farinha de arroz fermentada com *Rhizopus oryzae*

BA = farinha de banana fermentada com *Aspergillus niger*

BB = farinha de banana fermentada com *Rhizopus oligosporus*

MA = farinha de mandioca fermentada com *Aspergillus niger*

MB = farinha de mandioca fermentada com *Rhizopus oligosporus*

Para comparar as fermentações e os diferentes tempos dentro da mesma fermentação, foi aplicada regressão polinomial (CAMPOS, 1984; HICKS, 1973; PIMENTEL GÔMES, 1982).

Para a análise do ensaio biológico foi utilizada a técnica de análise de variância de blocos ao acaso, com

parcelas subdivididas. Para verificar qual foi a dieta com a melhor qualidade protéica fizeram-se comparações múltiplas aplicando teste F para contrastes, sendo desdobrados os graus de liberdade de dietas nos seguintes contrastes ortogonais:

$$\text{Contraste 1} = CA - (FAf. + FA + AP)$$

$$\text{Contraste 2} = (FAf. + FA) - AP$$

$$\text{Contraste 3} = FAf. - FA$$

onde:

FAf. = dieta de farinha de arroz fermentada com *Rhizopus oligosporus* por 50 horas

FA = dieta de farinha de arroz

CA = dieta de caseína + 0,3% de metionina

AP = dieta aprotéica

Para a comparação das semanas dentro de cada dieta foi aplicado regressão polinomial (CAMPOS, 1984; HICKS, 1973; PIMENTEL GOMES, 1982).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. FARINHAS

A farinha de arroz obtida foi de cor clara, branco-amarelado, com odor característico, apresentando um rendimento de 96% em relação ao grão antes do cozimento.

A farinha de banana apresentou uma coloração amarelo claro devido à ação do metabissulfito de potássio a 2% empregado para o controle do escurecimento enzimico (enzima polifenoloxidase) conforme já constatado por FONSECA et alii (1974). O odor da farinha era característico de banana. O rendimento da farinha foi de 24,47% em relação à banana já descascada e de 13,81% em relação à banana com casca, rendimento similar ao encontrado por VEIGA (1963).

Todas as farinhas foram passadas em peneira com malha de 30 "mesh" (1,8 mm) antes de serem preparadas para a inoculação.

Após a fermentação, as farinhas de arroz e mandioca continuaram apresentando a mesma cor, porém a farinha de banana escureceu um pouco, tornando-se amarelo mais escuro, provavelmente devido à oxidação da polifenoloxidase.

4.2. ANÁLISES QUÍMICAS

4.2.1. Farinhas antes da fermentação

Os resultados das análises químicas das farinhas de arroz, banana e mandioca são apresentados na **Tabela 1.**

Tabela 1. Composição química das farinhas de arroz, banana e mandioca em base seca.

Farinha	Arroz	Banana	Mandioca
umidade ⁺ (%)	6,40	4,90	2,80
proteína L ⁺⁺ (%)	7,69	4,84	2,52
proteína K ⁺ (%)	8,14	5,76	2,78
extrato etéreo ⁺ (%)	0,20	0,89	0,85
cinzas ⁺ (%)	2,06	5,18	2,90
fibras ⁺ (%)	2,03	1,47	1,89
açúcares red. ⁺ (%)	1,93	0,04	0,04
carboidratos ⁺ (%)	82,65	87,79	87,66

+ média de 3 repetições

++ média de 4 repetições

proteína L = proteína determinada pelo método de LOWRY et alii (1951)

proteína K = proteína determinada pelo método de Kjeldahl com tratamento prévio.

Os dados encontrados para farinha de arroz no presente trabalho, foram semelhantes aos encontrados por SILVA (1969) em termos de proteína (7,6%) e gordura (0,3%), porém são inferiores quanto às cinzas (0,4%), fibras (0,2%) e carboidratos (79,4%). Quanto ao teor protéico do arroz TEIXEIRA & AZZINI (1976) en-

contraram uma variação da proteína de 5,21 a 10,20%. Esta diferença encontrada quanto às cinzas, fibras e carboidratos provavelmente se deva a diferenças entre cultivares e tratamentos culturais.

Os resultados encontrados para a farinha de banana foram semelhantes aos encontrados por ALMEIDA (1934), VEGA (1963) e SIMMONDS (1982). Os dados apresentados por BORZANI (1963) se aproximaram quanto ao teor protéico (4,7%) e carboidratos (84,2%), sendo inferior quanto às cinzas (3,7%) e superior quanto aos açúcares redutores (1,5%). Isto se explica pelo fato das bananas utilizadas para o preparo da farinha ainda estarem verdes, enquanto que para o preparo da farinha para meio de cultura, as bananas utilizadas eram maduras.

Em relação à farinha de mandioca, a composição química aproximou-se da encontrada por CONCEIÇÃO (1987) e a quantidade de carboidratos foi semelhante a encontrada por GRACE (1971), porém as outras determinações não foram semelhantes. Provavelmente seja por diferentes épocas de colheita, as variedades de mandioca empregadas e diferentes metodologias para determinações.

4.2.2. Farinhas durante a fermentação

4.2.2.1. pH

Durante as fermentações, foram retiradas, de tempo em tempo, amostras para posterior análise química. Nes

tas amostras foram medidos pH, porém constatou-se que o pH alterou pouco, como pode ser visto na **Tabela 2**. Isto talvez se deva ao efeito tampão da uréia e sulfato de amônio que foram colocados no meio como fonte de nitrogênio para o fungo. Este efeito já tinha sido descrito por DAUBRESSE et alii (1987), READE & GREGORY (1975) e THIEMANN (1987).

Tabela 2. Valores do pH das fermentações nos diferentes tempos.

<div>Fermentação \ Horas</div>	0	20	30	40	50	60	70	80
f. arroz <i>A. niger</i>	4,5	4,7	4,7	4,9	5,0	5,2	5,2	5,2
f. arroz <i>R. oligosporus</i>	4,5	4,6	4,6	4,7	4,9	4,9	5,0	5,1
f. arroz <i>R. oryzae</i>	4,5	4,6	4,5	4,6	4,8	4,8	4,9	5,0
f. banana <i>A. niger</i>	4,5	4,5	4,7	4,7	4,8	4,9	5,1	5,2
f. banana <i>R. oligosporus</i>	4,5	4,6	4,8	4,7	4,9	5,1	5,2	5,1
f. mandioca <i>A. niger</i>	4,5	4,6	4,8	4,7	4,9	5,0	5,0	5,2
f. mandioca <i>R. oligosporus</i>	4,5	4,5	4,5	4,6	4,7	4,9	4,9	5,1

A amônia liberada durante o processo de fermentação pela ação de enzimas proteolíticas provavelmente seja a causa desta elevação do pH das fermentações.

4.2.2.2. Proteína

Em termos de produção protéica, estimada pelo método de LOWRY et alii (1951) o melhor resultado foi obtido

pela fermentação em que se empregou o fungo *R. oligosporus*. Considerou-se a proteína determinada pelo método de LOWRY et alii (1951), devido ao fato de terem sido colocados uréia e sulfato de amônio no substrato, com a finalidade de fornecer nitrogênio não protéico para a formação de biomassa celular. Na determinação feita pelo método Kjeldahl (AOAC, 1975), mesmo procedendo a um tratamento prévio no material, a quantidade de proteína bruta encontrada sempre foi maior do que a apresentada por outro método. Para a farinha de banana, quando o ácido tricloroacético foi colocado, houve formação de gel, fazendo com que uma maior quantidade de nitrogênio ficasse retida e as quantidades de proteína bruta fossem bem superiores.

Através dos contrastes foi possível observar também que entre os substratos utilizados, o arroz foi o melhor para a produção protéica.

C.V.	G.L.	Q.M.
contraste 1	1	2.125,2328**
contraste 2	1	1,9582**
contraste 3	1	794,8875**
contraste 4	1	0,2321**
contraste 5	1	0,5625**
contraste 6	1	315,3732**
resíduo	21	0,0040**

** significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Como resultado da regressão polinomial, pudemos observar que houve um aumento do conteúdo protéico até o tempo próximo a 50 horas e depois foi diminuindo o teor protéico existente nos materiais (Figura 2).

$$Y = 5.023695 + .1778915X - 1.929623E-03X^2$$

Figura 2. Teor protéico nas fermentações de farinha de arroz, banana e mandioca com diferentes fungos.

C.V.	G.L.	Q.M.
regressão linear	1	58,5440**
regressão quadrática	1	313,4278**
regressão cúbica	1	17,3630**
desvio de regressão	4	4,5145**
resíduo	147	0,0043

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

A queda que ocorreu no final do processo deve ter sido causada pela ausência de um ou mais nutrientes essenciais para o crescimento do fungo, necessidade de maior quantidade de aeração (oxigênio) ou maior superfície para o crescimento do fungo. Esses são alguns fatores que, provavelmente, poderiam ter influenciado no crescimento do fungo e, conseqüentemente, na quantidade de proteína produzida.

Na fermentação de farinha de arroz com *Aspergillus niger*, pôde-se notar que ocorreu o ponto máximo entre 50 e 60 horas (Figura 3) e após este período, uma diminuição na quantidade protéica podendo terem como causa os fatores citados acima.

Figura 3. Teor protéico na fermentação de farinha de arroz com *Aspergillus niger*.

Considerando outro substrato para a fermentação, como a banana (**Figura 4**), constatou-se que o comportamento quanto à quantidade de proteína foi semelhante, porém os pontos máximos foram atingidos em diferentes horas. Desta maneira, em cada substrato em que o fungo se encontra ocorreu um comportamento diferente.

Figura 4. Teor protéico na fermentação de farinha de banana com *Aspergillus niger*.

C.V.	G.L.	F. arroz	Q.M. F. banana
regr. linear	1	0,4116**	0,0003
regressão quadrática	1	3,8463**	1,5017**
regressão cúbica	1	2,2142**	0,0221*
desvios de regressão	4	0,2269**	0,0428**
resíduo	147	0,0043	0,0043

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Pôde-se constatar que o fungo *Aspergillus niger* não se desenvolveu de maneira satisfatória em nenhum dos substratos, seu crescimento foi discreto.

Observando-se a quantidade de proteína produzida durante a fermentação pelo fungo *Rhizopus oligosporus* nos substratos de arroz (**Figura 5**), banana (**Figura 6**) e mandioca (**Figura 7**), pôde-se constatar que a quantidade máxima de proteína produzida no substrato de arroz foi maior que para o meio de banana e mandioca, sendo que a quantidade produzida em meio de mandioca foi maior que a do substrato banana, considerando-se o conteúdo protéico.

C.V.	G.L.	F. arroz	Q.M. F. banana	F. mandioca
regr. linear	1	336,8691**	1,2242**	0,4877**
regr. quadr.	1	198,1441**	1,9755**	294,6844**
regr. cúbica	1	141,0240**	1,5428**	0,0374**
desvio de regr.	4	14,0028**	0,2803**	4,0406**
resíduo	147	0,0043	0,0043	0,0043

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

A quantidade máxima protéica foi alcançada em 50 horas de fermentação para as farinhas de arroz e banana, para a farinha de mandioca o melhor tempo foi de 40 horas de fermentação.

Figura 5. Teor protéico na fermentação de farinha de arroz com *Rhizopus oligosporus*.

Figura 6. Teor protéico na fermentação de farinha de banana com *Rhizopus oligosporus*.

Figura 7. Teor protéico na fermentação de farinha de mandioca com *Rhizopus oligosporus*.

Para o fungo *Rhizopus oryzae* inoculado em farinha de arroz obteve-se um resultado com o máximo de quantidade de proteína em 40 horas de fermentação (**Figura 8**), sendo que apresentou um incremento protéico maior que o fungo *A. niger*, mas menor que *R. oligosporus*, quando foram inoculados em farinha de arroz.

Figura 8. Teor protéico na fermentação de farinha de arroz com *Rhizopus oryzae*.

C.V.	G.L.	Q.M.
regressão linear	1	0,8902**
regressão quadrática	1	78,3339**
regressão cúbica	1	14,5254**
desvio de regressão	4	0,8982**
resíduo	147	0,0043

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

4.2.2.3. Carboidratos

Para todas as fermentações, a quantidade de carboidratos foi diminuída, sendo que nas fermentações com o fungo *R. oligosporus* em farinha de arroz e com farinha de mandioca foram as fermentações que mais consumiram carboidratos e produziram maior quantidade de proteína, seguidas pela farinha de banana fermentada com *A. niger*, a qual consumiu uma quantidade maior de carboidratos do que a fermentada com *R. oligosporus*, mas produziu menor conteúdo protéico.

C.V.	G.L.	Q.M.
contraste 1	1	44.384,4817**
contraste 2	1	73,6879**
contraste 3	1	834,2601**
contraste 4	1	6.022,6882**
contraste 5	1	37,0832**
contraste 6	1	1.490,4208**
resíduo	14	0,0003

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Com a regressão polinomial constatou-se que houve diminuição na quantidade de carboidratos, sendo que, de maneira geral, no final da fermentação, parece ter havido estabilização da quantidade (**Figura 9**).

Figura 9. Teor de carboidratos nas fermentações de farinha de arroz, banana e mandioca com diferentes fungos.

C.V.	G.L.	Q.M.
regressão linear	1	15.119,4878**
regressão quadrática	1	136,6818**
regressão cúbica	1	425,4015**
desvios de regressão	4	20,4544**
resíduo	98	0,0007

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Durante a fermentação, a quantidade de carboidratos foi diminuindo, enquanto o fungo estava em maior ativi

dade. No final da fermentação não houve uma diminuição acentuada, provavelmente pelo fato do fungo não estar se desenvolvendo em velocidade rápida.

Nas fermentações em que se empregou o fungo *Aspergillus niger*, constatou-se que o incremento protéico foi menor, sendo que a farinha de arroz (**Figura 10**) foi a que apresentou o menor consumo de carboidratos. Já fermentação com farinha de banana, produziu menos proteína e consumiu mais carboidratos (**Figura 11**). Na fermentação onde o substrato foi a farinha de mandioca (**Figura 12**), embora a quantidade de proteína produzida tenha sido menor, a diminuição no teor de carboidratos também foi menor do que na fermentação de banana.

C.V.	G.L.	F. arroz	Q.M. F. banana	F. mandioca
regr. linear	1	238,5128**	946,2517**	1.255,3971**
regr. quadr.	1	0,7691**	94,8517**	134,4253**
regr. cúbica	1	0,1057**	2,5173**	53,1550**
desvio de regr.	4	1,7483**	2,6609**	8,8980**
resíduo	98	0,0007	0,0007	0,0007

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Figura 10. Teor de carboidratos na fermentação de farinha de arroz com *Aspergillus niger*.

Figura 11. Teor de carboidratos na fermentação de farinha de banana com *Aspergillus niger*.

Figura 12. Teor de carboidratos na fermentação de farinha de mandioca com *Aspergillus niger*.

As fermentações com o fungo *R. oligosporus* foram as que apresentaram maior quantidade protéica, sendo que a farinha de arroz (**Figura 13**) e a farinha de mandioca (**Figura 14**), apresentaram menor quantidade de carboidratos. Na fermentação com farinha de banana foi o substrato em que o fungo *R. oligosporus* teve o menor desenvolvimento, entretanto foi o substrato que apresentou a menor diminuição na quantidade de carboidratos (**Figura 15**). A farinha de arroz fermentada com *R. oligosporus*, onde inicialmente havia 62,65% de carboidratos, chegou ao final com 13,81%. Esta fermentação foi a que apresentou maior quantidade de proteínas.

C.V.	G.L.	F. arroz	Q.M. F. banana	F. mandioca
regr. linear	1	6.010,8753**	441,2118**	6.284,1428**
regr. quadr.	1	128,3747**	3,0267**	305,4279**
regr. cúbica	1	48,9266**	16,3039**	640,5133**
desvio de regr.	4	128,9088**	5,4166**	132,7002**
resíduo	98	0,0007	0,0007	0,0007

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

$$Y = 65.92993 - .9416008X + 3.772732E-03X^2$$

Figura 13. Teor de carboidratos na fermentação de farinha de arroz com *Rhizopus oligosporus*.

Figura 14. Teor de carboidratos na fermentação de farinha de mandioca com *Rhizopus oligosporus*.

Figura 15. Teor de carboidratos na fermentação de farinha de banana com *Rhizopus oligosporus*.

Para o fungo *Rhizopus oryzae* inoculado em farinha de arroz (Figura 16), encontrou-se uma diminuição na quantidade de carboidratos superior a encontrada para *Aspergillus niger* e inferior a encontrada para *R. oligosporus*, sendo que a quantidade protéica encontrada para este fungo também foi intermediária.

C.V.	G.L.	Q.M.
regressão linear	1	4.340,2926**
regressão quadrática	1	6,7047**
regressão cúbica	1	148,8182**
desvio de regressão	4	35,8516**
resíduo	98	0,0007

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Figura 16. Teor de carboidratos na fermentação de farinha de arroz com *Rhizopus oryzae*.

4.2.2.4. Açúcares redutores

De maneira geral, os açúcares redutores apresentaram um aumento até atingir o máximo, ao redor de 40 horas (Figura 17), havendo depois um declínio.

C.V.	G.L.	Q.M.
contraste 1	1	47,6471**
contraste 2	1	35,4323**
contraste 3	1	306,1990**
contraste 4	1	16,6263**
contraste 5	1	0,0217**
contraste 6	1	221,7510**
resíduo	14	0,0005

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

$$Y = 1.00571 + .0769848X - 0.154544E-04X^2$$

Figura 17. Teor de açúcares redutores nas fermentações de farinha de arroz, banana e mandioca com diferentes fungos.

Isto foi observado, quando foram analisadas todas as fermentações em conjunto. Se se considerar cada fermentação isoladamente pode-se observar que não houve uma variação cíclica dos teores de açúcares redutores durante a fermentação, pois houve aumentos e diminuições durante o período. Isto provavelmente se explica pelo consumo desses açúcares pelo fungo, diminuindo assim sua quantidade, porém com a liberação de enzimas amilolíticas ocorreu um aumento na quantidade de açúcares redutores no meio. Portanto, o aumento e a diminuição dos açúcares redutores não apresentaram um ciclo distinto, pois a velocidade de utilização dos açúcares redutores e a quantidade de enzimas liberadas também se fazem de acordo com as necessidades do fungo. Na produção de "koji" foi observado comportamento semelhante, segundo WOOD & MIN (1975).

C.V.	G.L.	Q.M.
regressão linear	1	11,2170**
regressão quadrática	1	41,9984**
regressão cúbica	1	1,0178**
desvios de regressão	4	4,4731**
resíduo	98	0,0003

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

4.2.2.5. Lipídeos

Observou-se que a farinha de arroz foi a que

apresentou maior teor de lipídeos, seguida pela farinha de mandioca e, com menor quantidade, a farinha de banana. Quando foram feitas comparações quanto aos fungos, pôde-se observar que nas fermentações das farinhas de arroz e mandioca com *R. oligosporus* obtiveram-se as maiores quantidades de lipídeos, porém na farinha de banana fermentada com *A. niger* a quantidade de lipídeos foi a menor.

C.V.	G.L.	Q.M.
contraste 1	1	44,2183**
contraste 2	1	1,8405**
contraste 3	1	31,0651**
contraste 4	1	24,6247**
contraste 5	1	0,0884**
contraste 6	1	15,2889**
resíduo	14	0,0013

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

O conteúdo inicial de lipídeos para os três substratos foram inferiores às quantidades de lipídeos existentes no micélio fúngico que varia de 2 a 8% (KIHLEBERG, 1972). Portanto, com o crescimento micelial, a tendência foi de aumento na quantidade de lipídeos (**Figura 18**).

C.V.	G.L.	Q.M.
regressão linear	1	71,7685**
regressão quadrática	1	1,6319**
regressão cúbica	1	2,9015**
desvio de regressão	4	2,3469**
resíduo	98	0,0002

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Figura 18. Teor de lipídeos nas fermentações de farinha de arroz, banana e mandioca com diferentes fungos.

Os lipídeos apresentaram uma ligeira diminuição no final do processo de fermentação, provavelmente pela

necessidade de energia para manutenção, bem como para a síntese de enzimas.

Observando as fermentações, constatou-se que o comportamento para a variação de lipídeos foi similar entre as farinhas, independentemente do fungo, podendo-se supor que o que influencia o teor de lipídeos são os constituintes do meio, agindo sobre diferentes fungos, apresentando estes uma resposta semelhante para o mesmo substrato.

Para a farinha de arroz fermentada com três diferentes fungos, ocorreu um aumento dos lipídeos até o tempo de 60 horas, atingindo o ponto máximo, quando feita a regressão polinomial entre 60 e 70 horas, com uma ligeira queda no final da fermentação. Nas Figuras 19, 20 e 21, pode-se observar a variação na quantidade de lipídeos durante as fermentações.

C.V.	G.L.	Q.M.		
		<i>A. niger</i>	<i>R. oligosporus</i>	<i>R. oryzae</i>
regr. linear	1	10,8739**	34,6887**	39,0693**
regr. quadr.	1	0,4942**	7,4575**	1,8074**
regr. cúbica	1	0,3704**	0,8760**	1,7014**
desvios de regr.	4	0,2265**	1,2989**	1,2623**
resíduo	98	0,0002	0,0002	0,0002

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Figura 19. Teor de lipídeos na fermentação de farinha de arroz com *Aspergillus niger*.

Figura 20. Teor de lipídeos na fermentação de farinha de arroz com *Rhizopus oligosporus*.

Figura 21. Teor de lipídeos na fermentação de farinha de arroz com *Rhizopus oryzae*.

Para a farinha de banana, como o crescimento micelial foi bem pequeno, as variações em termos de lipídeos oscilaram muito, não sendo possível, com a regressão polinomial até o terceiro grau, explicar satisfatoriamente, devido aos coeficientes de determinação serem muito baixos.

C.V.	G.L.	Q.M.	
		<i>A. niger</i>	<i>R. oligosporus</i>
regressão linear	1	0,0233**	0,2662**
regressão quadrática	1	0,3431**	0,0535**
regressão cúbica	1	0,0094**	0,0189**
desvio de regressão	4	0,0376**	0,1336**
resíduo	98	0,0002	0,0002

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Para a farinha de mandioca houve um comportamento semelhante ao do arroz, só que inicialmente houve uma pequena diminuição na quantidade de lipídeos do meio, tanto para o fungo *A. niger* (**Figura 22**), como para o fungo *R. oligosporus* (**Figura 23**).

C.V.	G.L.	Q.M.	
		<i>A. niger</i>	<i>R. oligosporus</i>
regressão linear	1	4,5676**	27,0627**
regressão quadrática	1	0,2486**	0,0069**
regressão cúbica	1	0,4650**	1,0323**
desvios de regressão	4	0,2877**	0,8048**
resíduo	98	0,0002	0,0002

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Figura 22. Teor de lipídeos na fermentação de farinha de mandioca com *Aspergillus niger*.

Figura 23. Teor de lipídeos na fermentação de farinha de mandioca com *Rhizopus oligosporus*.

A diminuição inicial provavelmente se deu devido à produção da proteína e o consumo de carboidratos ainda não serem acentuados. Portanto, em termos de porcentagem, ocorreu a diminuição no teor de lipídeos.

4.2.2.6. Cinzas

Observando os contrastes, concluiu-se que o fungo *R. oryzae* não diferiu quanto ao teor de cinzas dos demais fungos inoculados no substrato farinha de arroz, sendo que o maior teor de cinzas foi encontrado na fermentação com *R. oligosporus*, não só quando o substrato foi a farinha de arroz, mas também quando o substrato foi farinha de mandioca. O teor de cinzas não apresentou diferença quando comparada com a farinha de banana fermentada com *A. niger* e a farinha de banana fermentada com *R. oligosporus*.

C.V.	G.L.	Q.M.
contraste 1	1	14,9248**
contraste 2	1	0,3875
contraste 3	1	50,2861**
contraste 4	1	22,9219**
contraste 5	1	0,3451
contraste 6	1	3,9733**
resíduo	14	0,0893

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

A quantidade de cinzas apresentou um aumento com o passar do tempo de fermentação, considerando-se todas as fermentações (Figura 24).

C.V.	G.L.	Q.M.
regressão linear	1	53,0135**
regressão quadrática	1	0,2186
regressão cúbica	1	0,7943**
desvio de regressão	4	0,1634
resíduo	98	0,0889

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Figura 24. Teor de cinzas nas fermentações de farinha de arroz, banana e mandioca, com diferentes fungos.

Este fato do aumento das cinzas com o passar do tempo de fermentação, provavelmente pode ser explicado, em parte, pelo crescimento do micélio que foi se acumulando no meio, uma vez que o fungo possui uma quantidade de cinzas bem superior ao dos substratos, cerca de 9 a 14% (KIHLEBERG, 1972).

A quantidade de cinzas foi influenciada pelo substrato e não pelo fungo em questão. Para a fermentação com o substrato farinha de arroz foi obtido um aumento linear para a quantidade de cinzas, quando a fermentação foi feita com *A. niger* e *R. oryzae* (**Figuras 25 e 26**), respectivamente. Quando inoculado com *R. oligosporus* (**Figura 27**), obteve-se uma ligeira queda no final da fermentação.

C.V.	G.L.	Q.M.		
		<i>A. niger</i>	<i>R. oligosporus</i>	<i>R. oryzae</i>
regr. linear	1	8,2792**	38,6108**	34,6334**
regr. quadr.	1	0,0429	3,2540**	0,0378
regr. cúbica	1	1,1153**	1,6596**	0,2236
desvios de regr.	4	0,1076	0,2754*	0,4404**
resíduo	98	0,0889	0,0889	0,0889

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Figura 25. Teor de cinzas nas fermentações de farinha de arroz com *Aspergillus niger*.

Figura 26. Teor de cinzas nas fermentações de farinha de arroz com *Rhizopus oryzae*.

Figura 27. Teor de cinzas na fermentação de farinha de arroz com *Rhizopus oligosporus*.

Quanto à farinha de banana, foi possível constatar que não houve diferença quanto ao teor de cinzas durante a fermentação. Provavelmente isto se deva a um crescimento micelial muito pequeno no substrato de banana, tanto para o fungo *A. niger*, como para o fungo *R. oligosporus*.

C.V.	G.L.	Q.M.	
		<i>A. niger</i>	<i>R. oligosporus</i>
regressão linear	1	0,2368	0,2288
regressão quadrática	1	0,0453	0,0267
regressão cúbica	1	0,4436*	0,3373
desvios de regressão	4	0,1468	0,6718**
resíduo	98	0,0889	0,0889

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Na fermentação de farinha de mandioca com o fungo *A. niger*, observou-se um aumento na quantidade de cinzas (**Figura 28**), assim como na fermentação com *R. oligosporus* (**Figura 29**). Provavelmente, com o crescimento do micélio fúngico, a quantidade de cinzas no material da fermentação aumentou.

C.V.	G.L.	Q.M.	
		<i>A. niger</i>	<i>R. oligosporus</i>
regressão linear	1	7,1214**	2,5947**
regressão quadrática	1	0,0649	0,0193
regressão cúbica	1	1,1249**	8,2757**
desvios de regressão	4	0,1393	0,3921
resíduo	98	0,0889	0,0889

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Figura 28. Teor de cinzas na fermentação de farinha de mandioca com *Aspergillus niger*.

Figura 29. Teor de cinzas na fermentação de farinha de mandioca com *Rhizopus oligosporus*.

4.2.2.7. Fibras

O conteúdo de fibras no material fermentado pareceu estar mais relacionado com o fungo e seu crescimento do que com o substrato onde ele se encontra. As farinhas de arroz e de mandioca fermentadas com *R. oligosporus* apresentaram quantidades maiores de fibras do que estes substratos fermentados com *A. niger* e *R. oryzae*. Porém a farinha de banana, fermentada com o fungo *A. niger*, apresentou maior quantidade de fibras talvez pelo volume de micélio.

C.V.	G.L.	Q.M.
contraste 1	1	0,7050**
contraste 2	1	1,1917**
contraste 3	1	63,6027**
contraste 4	1	20,3841**
contraste 5	1	3,3180**
contraste 6	1	2,6980**
resíduo	14	0,0109

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

O comportamento do teor de fibra (Figura 30) foi semelhante ao dos lipídeos nos materiais fermentados, ou seja, houve aumento durante as fermentações e uma ligeira diminuição no final.

C.V.	G.L.	Q.M.
regressão linear	1	62,7551**
regressão quadrática	1	0,4638**
regressão cúbica	1	7,7442**
desvio de regressão	4	0,9028**
resíduo	98	0,0120

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Figura 30. Teor de fibras nas fermentações de farinha de arroz, banana e mandioca com diferentes fungos.

Na fermentação da farinha de arroz com *A. ni-*

ger (Figura 31), observou-se uma diminuição na quantidade de fibras com um posterior aumento, aumento este provavelmente devido à quantidade de micélio fúngico no material fermentado. Para a fermentação com o fungo *R. oligosporus* com farinha de arroz (Figura 32), foi observado o mesmo comportamento.

Figura 31. Teor de fibras na fermentação de farinha de arroz com *Aspergillus niger*.

Figura 32. Teor de fibras na fermentação de farinha de arroz com *Rhizopus oligosporus*.

Nas fermentações de farinha de banana com *A. niger* e farinha de banana com *R. oligosporus* variaram de maneira que não foi possível explicar pela regressão polinomial até o terceiro grau, isto deve ao pequeno desenvolvimento micelial destes fungos neste substrato.

C.V.	G.L.	Q.M.	
		F. arroz <i>A. niger</i>	F. arroz <i>R. oligosporus</i>
regressão linear	1	7,6055**	30,3914**
regressão quadrática	1	6,8617**	0,0962**
regressão cúbica	1	0,2880**	8,6523**
desvios de regressão	4	0,6116**	1,0470**
resíduo	98	0,0120	0,0120

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Nas fermentações com farinha de mandioca, obtiveram-se as maiores variações, sendo que o fungo *A. niger* (**Figura 33**), apresentou um comportamento similar ao encontrado na fermentação com farinha de arroz. Já na fermentação de farinha de mandioca com *R. oligosporus* (**Figura 34**), houve aumento no teor de fibras com o aumento do tempo de fermentação.

C.V.	G.L.	Q.M.	
		<i>A. niger</i>	<i>R. oligosporus</i>
regressão linear	1	24,5306**	24,5083**
regressão quadrática	1	0,2534**	0,0242
regressão cúbica	1	3,3955**	0,0666*
desvio de regressão	4	0,3297**	0,7906**
resíduo	98	0,0120	0,0120

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Figura 33. Teor de fibras na fermentação de farinha de mandioca com *Aspergillus niger*.

Figura 34. Teor de fibras na fermentação de farinha de mandioca com *Rhizopus oligosporus*.

4.3. AMINOÁCIDOS

Comparando-se o perfil de aminoácidos da farinha de arroz com *Rhizopus oligosporus* fermentada por 50 horas com o padrão aminoacídico da FAO (1981) observou-se que o primeiro aminoácido limitante são os sulfurados totais (metionina + cisteína) com um "score" de 76,03%, seguido de treonina ("score" 91,03%) e a lisina como terceiro limitante ("score" 97,40%). Quando foi feita a comparação com a farinha de arroz foi encontrado como primeiro limitante a lisina ("score" 69,20%) e, como segundo a treonina com um "score" de 87,33%. A **Tabela 3** mostra o conteúdo de aminoácidos essenciais em comparação com a FAO (1981).

Tabela 3. Conteúdo de aminoácidos essenciais.

Aminoácidos	FAO-81 +	F. arroz +	"Score" %	F. arroz ferment. +	"Score" %
Isoleucina	30,0	44,18	147,27	36,35	121,17
Leucina	65,0	86,72	133,42	72,69	111,83
Lisina	55,0	38,06	69,20	53,57	97,40
Met. + Cist.	30,0	38,66	128,87	22,81	76,03
Finilal + Tiros.	50,0	84,78	169,56	117,04	234,08
Treonina	40,0	34,93	87,33	36,41	91,03
Triptofano	10,0	10,39	103,90	10,34	103,40
Valina	40,0	60,90	152,25	46,61	116,53
Total	320,0	398,62		395,82	

+ mg de aminoácido/g de proteína

Os resultados confirmaram que há necessidade de suplementação com metionina para se obter melhores resultados com fungos, pois os produtos de fermentação são deficientes em aminoácidos sulfurados (LITCHFIELD, 1979; KIHLEBERG, 1972). Observando a quantidade de lisina, obteve-se um aumento em comparação à farinha de arroz antes da fermentação, como também aumentaram aromáticos totais (fenilalanina + tirosina) e treonina, enquanto que houve uma diminuição no valor do

"score" da isoleucina, leucina, sulfurados totais (metionina + cisteína) e valina. Portanto, quimicamente o produto fermentado é melhor do que o não fermentado em termos de proteína. Na **Figura 35** pode ser observado como variaram os aminoácidos antes e após a fermentação.

4.4. ENSAIO BIOLÓGICO

O ensaio biológico com ratos albinos foi executado para avaliação nutricional da farinha de arroz fermentada com *Rhizopus oligosporus* por 50 horas, da farinha de arroz e da dieta de caseína como padrão.

A composição química dos tratamentos empregados para o ensaio biológico é apresentada na **Tabela 4**.

Tabela 4. Composição química das dietas experimentais para o ensaio biológico ao nível de 10% de proteína.

Dietas expe		Umidade	Proteína	Gordura	Cinzas	Fibras	Carboid. ⁺
rimentais		%	%	%	%	%	%
Tratamento I		5,30	9,90	8,00	1,94	0,20	74,66
Tratamento II		5,70	9,70	8,60	2,00	0,27	73,73
Tratamento III		6,10	10,10	8,40	0,94	0,15	74,34
Tratamento IV		6,00	2,00	8,40	0,91	0,15	82,51

+ calculado por diferença

Figura 35. Comparação do conteúdo de aminoácidos essenciais da farinha de arroz e farinha de arroz fermentada com *Rhizopus oligosporus* com a proteína padrão FAO/81.

Tratamento I: farinha de arroz com *R. oligosporus* com 50 horas de fermentação;

Tratamento II: farinha de arroz

Tratamento III: Caseína + 0,3% de metionina

Tratamento IV: aprotéica

A partir dos dados obtidos com o ensaio biológico, foi possível calcular os parâmetros mostrados na **Tabela 5**. Destes parâmetros concluiu-se que a digestibilidade da farinha de arroz fermentada (88,55%) foi maior do que a de farinha de arroz (83,00%), resultados que concordam com o obtido por SOLOMONS (1973) e SPICER (1971), os quais encontraram uma digestibilidade elevada para o micélio fúngico, aumento este que provavelmente se deu, devido à ação de enzimas fúngicas sobre os substratos, facilitando assim sua digestibilidade.

A utilização protéica líquida (NPU) da caseína foi de 80,90% superando a farinha de arroz (65,77%) e a farinha de arroz fermentada (53,36%), mostrando que a fermentação diminuiu a utilização da proteína. Resultados semelhantes foram encontrados por GREGORY et alii (1976) e segundo SPICER (1971) o micélio fúngico apresentou NPU de 70 a 75%, dependendo do fungo empregado.

O valor biológico da farinha de arroz com *R. oligosporus* foi de 60,26%, enquanto que o da farinha de arroz foi superior (79,24%), assim como o da caseína (84,00%). Resultado semelhante ao valor biológico da farinha de arroz foi

encontrado por DE ANGELIS & AMARAL (1981), sendo que, com fermentação o valor biológico diminuiu.

A razão de eficiência protéica (PER) e o coeficiente de eficiência alimentar (CEA) não foram calculados para a dieta de farinha de arroz fermentada com *Rhizopus oligosporus* por não ter havido ganho, mas sim perda de peso de animais.

Comparando-se o PER do arroz com o da caseína houve uma pequena diferença com vantagem para a caseína, e o CEA foi três vezes maior para a caseína que para a farinha de arroz, sendo que valores do PER foram semelhantes aos encontrados por DE ANGELIS & AMARAL (1981). Os resultados desses parâmetros de análise biológica estão dispostos na **Tabela 5**.

Tabela 5. Resultados da digestibilidade (D), utilização protéica líquida (NPU), valor biológico (VB), razão de eficiência protéica (PER) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) para as dietas experimentais e controle.

Dietas experimentais		D(%)	NPU(%)	VB(%)	PER	CEA
Tratamento	I	88,55	53,36	60,26	-	-
Tratamento	II	83,00	65,77	79,24	2,12	0,10
Tratamento	III	96,30	80,90	84,00	2,90	0,30
Média de 6 repetições						

A dieta que apresentou o maior consumo protéico foi a dieta de caseína seguida pela farinha de arroz e fa-

rinha de arroz fermentada com *Rhizopus oligosporus* por 50 horas. Biologicamente a resposta não foi condizente com o computo químico, que apresentou como sendo mais completa a proteína do arroz fermentado.

C.V.	G.L.	consumo protéico	Q.M. peso
contraste 1	1	420,2100**	64.620,1636**
contraste 2	1	567,6306**	10.195,6225**
contraste 3	1	172,3692**	25.424,5342**
resíduo	15	1,0590	54,4731

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Os animais da dieta de arroz fermentado, embora tenham consumido proteínas, apresentaram um peso que ficou bem próximo ao da dieta aprotéica (**Figura 36**). A dieta de caseína se distanciou quanto ao peso dos animais, bem como quanto ao consumo protéico.

Em análise de regressão até o terceiro grau observou-se que o consumo protéico dos animais se comportou da seguinte maneira: para a farinha de arroz fermentada (**Figura 37**) foi sempre diminuindo, para a dieta de farinha de arroz

Figura 36. Peso dos animais (g/28 dias) dos tratamentos no ensaio biológico ao nível de 10% de proteína.

(Figura 38), os animais consumiram quantidades crescentes até a segunda semana do experimento, depois diminuíram o consumo, provavelmente pela baixa qualidade protéica. O consumo protéico para a caseína se manteve, não foi significativo entre as semanas, o mesmo ocorrendo para a dieta aprotéica.

C.V.	G.L.	arroz ferm.	Q.M. arroz	caseína	aprotéica
regr. linear	1	20,8583**	5,5255**	0,6660	0,2765
regr. quadr.	1	1,5050*	6,6255**	0,3267	0,0033
regr. cúbica	1	0,2262	0,1725	0,1456	0,0051
resíduo	60	0,2701	0,2701	0,2701	0,2701

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Figura 37. Consumo protéico (g/semana) de farinha de arroz fermentada.

Figura 38. Consumo protéico (g/semana) da dieta de farinha de arroz.

Quanto ao peso pode-se verificar pela regressão polinomial que na dieta de farinha de arroz fermentada (**Figura 39**), o peso foi diminuindo com o passar das semanas. Portanto, ou a dieta não apresentava boa palatabilidade, ou a qualidade e a quantidade protéica não foram satisfatórias para o desenvolvimento dos animais. Já na dieta de farinha de arroz (**Figura 40**) os animais ganharam peso, embora o consumo protéico a partir da segunda semana tenha diminuído. Para a dieta de caseína (**Figura 41**) obteve-se um ganho em peso desde a primeira semana, o inverso do comportamento observado para a dieta aprotéica (**Figura 42**), como era esperado.

C.V.	G.L.	Q.M.			
		arroz ferm.	arroz	caseína	aprotéica
regr. linear	1	271,3626**	22.453,7443**	45.788,4442**	622,1041**
regr. quadr.	1	18,6687	30,8430	305,9056**	48,4576
regr. cúbica	1	27,0683	486,7800**	5,7041	0,2802
desvios de regr.	1	5,1925	168,3398**	1,9612	27,5148
resíduo	80	14,9327	14,9327	14,9327	14,9627

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Figura 39. Peso dos animais (g/semana) alimentados com farinha de arroz fermentado.

Figura 40.. Peso dos animais (g/semanas) alimentados com farinha de arroz.

Figura 41. Peso dos animais (g/semana) alimentados com dieta de caseína.

Figura 42. Peso dos animais (g/semana) alimentados com dieta aprotéica.

4.5. ENSAIO TOXICOLÓGICO

Os animais do ensaio toxicológico foram divididos em tratamentos, sendo que cada tratamento foi constituído de quatro animais machos e quatro animais fêmeas. Aos 30 dias após o início do ensaio, foram executados dois animais (um macho e uma fêmea), sendo o mesmo procedimento seguido aos 60 dias e aos 90 dias.

As quantidades de ácido úrico foram normais para todos os animais, segundo os resultados apresentados na Tabela 6, onde constatou-se que não foram ultrapassados os limites dos valores normais de ácido úrico em ratos (0,5 a 3,4 mg/100 ml de sangue) (ALTMAN, 1961).

Tabela 6. Quantidade de ácido úrico (mg/100 ml de sangue) em animais machos e fêmeas alimentados com diferentes farinhas fermentadas durante os períodos de 30, 60 e 90 dias.

Dietas experimentais		30 dias		60 dias		90 dias	
		M	F	M	F	M	F
		(mg/100 ml)					
Tratamento	I	3,20	2,60	2,78	0,80	0,49	2,56
Tratamento	II	2,80	2,20	+	0,49	1,97	1,62
Tratamento	III	2,70	2,70	2,17	+	1,29	2,78
Tratamento	IV	2,40	2,10	2,26	1,25	1,28	+
Tratamento	V	2,90	3,30	1,28	+	2,30	2,51
Tratamento	VI	3,30	3,40	0,62	1,97	++	0,54
Tratamento	VII	2,80	1,80	2,28	1,55	++	0,49
Tratamento	VIII	1,80	2,30	1,94	3,39	1,80	0,84

+ não foi medido devido ao pequeno volume de plasma do animal, não conseguindo o volume mínimo.

++ não havia mais animal para proceder a medida.

Segundo LITCHFIELD (1979) o uso de células microbianas na alimentação causa a formação de pedras nos rins devido à presença de ácidos nucleicos em quantidades elevadas nas células microbianas. Consumida uma porção significan

te da proteína haveria elevação do ácido úrico, causando o problema citado. O teor de ácido nucléico em base seca em fungos é de 2,5 a 6,0% segundo TREVELYAN (1975).

Quanto aos exames histológicos não foram encontradas alterações nos rins, baço, intestino delgado e intestino grosso, como ocorreu com experimento realizado por READE & GREGORY (1975) quando fermentaram farinha de mandioca com *Aspergillus fumigatus* I-21A.

No fígado foram encontradas anormalidades quanto a quantidade de gordura (esteatose hepática) nas dietas com os menores teores de proteína, como pode ser visto nas Tabelas 7 e 8.

Tabela 7. Farinhas fermentadas, tempo de fermentação, quantidade de proteína da farinha e da dieta empregada no ensaio toxicológico.

Farinha	Microrganismos	Tempo de fermentação (Hs)	Proteína farinha (%)	Proteína dieta (%)
arroz	<i>A. niger</i>	40	8,52	8,01
arroz	<i>R. oligosporus</i>	50	21,01	10,00
arroz	<i>R. oryzae</i>	40	13,54	10,00
banana	<i>A. niger</i>	40	5,39	4,92
banana	<i>R. oligosporus</i>	50	6,24	5,78
mandioca	<i>A. niger</i>	40	3,75	3,53
mandioca	<i>R. oligosporus</i>	40	10,71	10,00
Caseína			80,00	10,00

Nas farinhas com os menores teores de proteína, ou seja, a farinha de arroz com *A. niger*, farinha de banana com *A. niger*, farinha de banana com *R. oligosporus* e a farinha de mandioca com *A. niger* foram as que causaram esteatose hepática nos animais, como exposto na **Tabela 8**.

Tabela 8. Grau de esteatose hepática apresentado pelas diferentes dietas nos tempos de 30, 60 e 90 dias, em ambos os sexos.

Dietas experimentais		30 dias		60 dias		90 dias	
		M	F	M	F	M	F
f. arroz	<i>A. niger</i>	A	A	A	A	L	L
f. banana	<i>A. niger</i>	A	A	A	A	L	L
f. banana	<i>R. oligosporus</i>	A	A	L	L	M	M
f. mandioca	<i>A. niger</i>	A	A	A	L	++	M

M: macho

F: fêmea

A: ausente

L: leve

M: moderada

++: não havia animal para proceder ao exame

Como pode ser observado na **Tabela 8**, somente em uma dieta houve diferença quanto ao sexo, indicando que até 90 dias o sexo não influenciou quanto o acúmulo de gordura no fígado.

Este acúmulo de gordura no fígado, provavelmente

te se deva a uma dieta baixa em proteína e alta em carboidratos, desenvolvendo assim uma desnutrição protéica semelhante ao kwashiorkor em humanos, a qual resulta em esteatose hepática, pois há falta de proteínas alterando o metabolismo celular, em especial o dos lipídeos. No fígado, o triglicerídeo intracelular, para ser excretado, deve ser complexado com uma apoproteína específica chamada de "proteína receptora de lipídeos" para formar lipoproteína para a saída de gordura das células. Com a diminuição da "proteína receptora de lipídeos", a conversão de triglicerídeos em lipoproteína fica prejudicada e, sendo esta a única forma pela qual o lipídeo é excretado pelo fígado, irá provocar o acúmulo de gordura (BOGLIOLO, 1972; ROBBINS et alii, 1986).

A **Tabela 9** apresenta o consumo de ração e peso dos animais dentro dos diferentes tratamentos, onde se pode observar que o consumo de ração foi bem inferior ao observado no grupo controle, sendo que para as dietas da farinha de mandioca foram observados os consumos mais baixos, juntamente com a dieta de arroz com *Aspergillus niger*. As demais dietas tiveram um consumo também abaixo do controle, porém superior ao das dietas acima. O consumo refletiu no peso dos animais, podendo ser observada a perda de peso nas dietas de mandioca e nas fêmeas da dieta de arroz com *A. niger*. Ocorreu perda de peso nos animais das dietas de farinha de banana com *A. niger* e farinha de arroz com *Rhizopus oligosporus*, em-

bora o consumo de ração tenha sido um pouco superior. Os machos da dieta de farinha de arroz com *A. niger* tiveram um consumo maior de dieta e apresentaram ganho em peso como os animais das dietas de arroz com *R. oryzae* e da farinha de banana com *R. oligosporus*. Porém, nenhuma das dietas apresentou pesos e consumos próximos ao da caseína, provavelmente, a palatabilidade das farinhas fermentadas tenha contribuído para esse consumo bem inferior.

Tabela 9. Variação em peso (g) e no consumo (g) das dietas empregadas no ensaio toxicológico.

Tratamentos	30 dias				60 dias				90 dias			
	Macho		Fêmea		Macho		Fêmea		Macho		Fêmea	
	peso (g)	consumo (g)	peso (g)	consumo (g)	peso (g)	consumo (g)	peso (g)	consumo (g)	peso (g)	consumo (g)	peso (g)	consumo (g)
I	2,70	242,40	-9,83	174,05	+24,57	445,23	-1,37	325,33	+10,60	583,35	-3,35	460,95
II	-3,93	225,08	-5,35	217,28	-5,73	363,70	-1,77	383,70	-6,75	498,70	-0,45	563,80
III	-0,95	246,83	+2,93	250,55	+7,97	450,33	+11,67	459,47	+15,70	613,35	+19,75	646,55
IV	-12,00	227,20	-11,00	202,73	-14,70	402,70	-10,33	354,53	-10,10	504,90	-0,65	514,90
V	-11,80	203,40	-10,00	206,58	+19,20	434,10	+13,87	414,43	+38,00	685,90	+14,15	605,05
VI	-32,15	185,20	-30,88	172,90	-33,47	321,20	-33,90	328,85	-	-	-36,00	486,20
VII	-32,10	152,25	-24,18	155,65	-29,70	308,30	-19,63	306,33	-	-	-25,20	377,85
VIII	+109,38	40 3,68	+84,73	373,35	+209,27	880,57	+138,47	753,80	+256,75	1.339,90	+173,25	1.125,45

Aos 30 dias a média foi calculada com 4 machos e 4 fêmeas, sendo que para o tratamento IV temos a média de 3 machos devido a morte de 1 animal.

Aos 60 dias a média foi calculada com 3 machos e 3 fêmeas, com as exceções dos tratamentos: IV com 2 machos e 3 fêmeas; VI com 2 machos e 2 fêmeas; VII com 1 macho e 3 fêmeas.

Aos 90 dias a média foi calculada com 2 machos e 2 fêmeas, com as exceções dos tratamentos: IV com 1 macho e 2 fêmeas; VI só com 1 fêmea; VII só com 2 fêmeas.

Tratamentos: I: farinha de arroz com *Aspergillus niger*
 II: farinha de arroz com *Rhizopus oligosporus*
 III: farinha de arroz com *Rhizopus oryzae*
 IV: farinha de banana com *Aspergillus niger*
 V: farinha de banana com *Rhizopus oligosporus*
 VI: farinha de mandioca com *Aspergillus niger*
 VII: farinha de mandioca com *Rhizopus oligosporus*
 VIII: caseína

5. CONCLUSÕES

- O enriquecimento protéico das farinhas de arroz, banana e mandioca foi conseguido através da fermentação com fungos filamentosos, sendo que a maior quantidade foi obtida com a fermentação de farinha de arroz por *Rhizopus oligosporus*. O substrato farinha de mandioca obteve um maior aumento no teor protéico, quando inoculada com *Rhizopus oligosporus*. A farinha de banana não se apresentou como um bom substrato para fermentação semi-sólida com os fungos *Aspergillus niger* e *Rhizopus oligosporus*.
- O fungo que melhor se desenvolveu nas condições utilizadas foi o *Rhizopus oligosporus*, sendo que o fungo *Aspergillus niger* não se desenvolveu satisfatoriamente.
- A qualidade nutricional da farinha de arroz após a fermentação com *Rhizopus oligosporus*, apresentou-se inferior no ensaio biológico em relação à farinha de arroz antes da inoculação, porém nas análises químicas apresentou resultados superiores.

- Os fungos utilizados não apresentaram toxidez para os animais, sendo os valores de ácido úrico e o exame histológico normais para as dietas com teor protéico satisfatório. Para as dietas com os menores teores protéicos os animais apresentaram acúmulo de gordura no fígado, estando os demais órgãos histologicamente normais.
- Não é possível, sem a complementação com outros produtos, obter com estas farinhas um produto que seja satisfatório quanto ao conteúdo protéico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, M. de. Dados históricos. In: ALBUQUERQUE, M. de. A mandioca do interior. Manaus, Superintendência do Desenvolvimento da Amazônia-SUDAM, 1969. p.11-29.
- ALMEIDA, J.R. de. Fabricação de farinha de bananas. Revista de Agricultura, Piracicaba, 9(7/8): 311-32, jul/ago. 1934.
- ALTMAN, P.L. Blood and other body fluids. Washington, Federation of American Societies for Experimental Biological, 1961. 532p. (Serie Biological Handbooks).
- ARAÚJO FILHO, J.R. de. A cultura da banana no Brasil. Boletim Paulista de Geografia, São Paulo, 27: 27-54, out. 1957.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURE CHEMISTS. Official methods of analisis association of official agriculture chemistis. 12.ed. Washington, AOAC, 1975. 1018 p.
- AZOULAY, E.; JOUANNEAU, F.; BERTRAND, J.C.; RAPHAEL, A.; JANSSENS, J.; LEBEAULT, J.M. Fermentation methods for protein enrichment of cassava and corn with *Candida tropicalis*. Applied and Environmental Microbiology, Washington, 39(1): 41-7, Jan. 1980.

- BERRY, D.R. The environmental control of the physiology of filamentous fungi. In: SMITH, J.E. & BERRY, D.R. The filamentous fungi. Industrial Mycology. London, Edward Arnold, 1975. v.1, cap. 6, p. 16-32.
- BOGLIOLO, L. Patologia. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan, 1972. 1275p.
- BORZANI, W. Nota sobre o emprego de farinha de banana no preparo de meios de cultura. Boletim do Departamento de Engenharia Química, São Paulo, 17: 1-2, jul. 1963.
- BRANDÃO, B.T. A farinha de mandioca e o seu emprego na panificação; uma interessante comunicação feita à Sociedade Nacional de Agricultura. A Lavoura, Rio de Janeiro, 40 (4): 117-9, abr. 1936.
- BROOK, E.J.; STANTON, W.R.; WALLBRIDGE, A. Fermentation methods for protein enrichment of cassava. Biotechnology and Bioengineering, New York, 11(6): 1271-84, Nov. 1969.
- CAMPOS, H.C. de. Estatística aplicada à experimentação com cana-de-açúcar. Piracicaba, ESALQ/USP, 1984. 343p.
- CASCUDO, L.C. A rainha do Brasil. In: CASCUDO, L.C. História da alimentação no Brasil. Belo Horizonte, Itatiaia, 1983. v.1, p.103-15.
- COLLARD, P. A two-stage fermentation of cassava. Nature, London, 183: 620-1, Fev. 1959.
- CONCEIÇÃO, A.J. da. A mandioca. 3.ed. São Paulo, Nobel, 1987. 382p.

- CRUESS, W.V. Desidratação de frutas. In: CRUESS, W.V. Produtos industriais de frutas e hortaliças. São Paulo, Edgard Blücher, 1973. v.2, cap. 18, p.554-96.
- DAUBRESSE, P.; NTIBASHIRWAS, S.; CHEYSEN, A.; MEYER, J.A. A process for protein enrichment of cassava by solid substrate fermentation in rural conditions. Biotechnology and Bioengineering, New York, 29(8): 962-8, Jun. 1987.
- DE ANGELIS, R.C. & AMARAL, L.A. Sensibilidade de diferentes métodos biológicos para diferenciar valor protéico de alguns alimentos. Archivos Latinoamericanos de Nutricion, Guatemala, 31(2): 253-69, Jun. 1981.
- DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry, Washington, 28(3): 350-2, Mar. 1956.
- EL-DASH, A.A. Utilização da mandioca na alimentação humana e em outros produtos industrializados. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, 13(145): 74-82, jan. 1987.
- FONSECA, H.; NOGUEIRA, J.N.; ANNICHINO, A.V.K.O.; BETKE, E. G. Estudo preliminar da influência da concentração de SO₂ no controle do escurecimento enzimico da banana passa. Anais da E.S.A. "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 31: 537,54, 1974.
- FONSECA, H.; GRANER, M.; NOGUEIRA, J.N.; ANNICHINO, A.V.K.O.; BERGAMIN FILHO, H.; KRUG, F.J.; ZAGATTO, E.A.G. Influência da embalagem e do período de armazenamento no teor residual de SO₂ em banana passa. Anais da E.S.A. "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 33: 791-804, 1976.
- FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION. Aminoacid scoring pattern. Rome, FAO, 1981. 173p.

- GRACE, M. Utilization of cassava products. In: GRACE, M. Processing of cassava. Rome, FAO, 1971. 124 p. (Agricultural Services Bulletin nº 8).
- GREGORY, K.F.; READE, A.E.; KHOR, G.L.; ALEXANDER, J.C.; LUMSDEN, J.H.; LOSOS, G. Conversion of carbohydrates to protein by high temperature fungi. Food Technology, Champaign, 30(3): 30-5, Mar. 1976.
- HESSELTINE, C.W. A millennium of fungi, food, and fermentation. Mycologia, New York, 57(2): 149-97, Mar./Abr, 1965.
- HICKS, C.R. Fundamental concepts in the design of experiments. 2.ed. Holt, Rinehart & Winston, 1973. 343p.
- HUGLI, T.E. & MOORE, S. Determination of the tryptophan content of protein by ion-exchange chromatography of alkaline hydrolysates. The Journal of Biological Chemistry, Baltimore, 247: 2828-34, 1972.
- INGRAM, J.S. Standards, specifications and quality requirements for processed cassava products. Tropical Products Institute, London, (102): 5-12, Dez. 1975.
- KAGEYAMA, N. A colorimetric methods for the determination of uric acid.. Clinica Chimica Acta, Amsterdam, 31: 421 - 7, 1971.
- KAKADE, M.L. & LIENER, I.E. A simplified procedure for the determination of "available" lysine in protein and protein foodstuffs. Analytical Biochemistry, San Diego, 27: 273-5, 1969.

- KIHLBERG, R. The microbe as a source of foods. Annual Review of Microbiology, Palo Alto, 26: 427-66, 1972.
- LITCHFIELD, J.H. Production of single-cell protein for use in food or feed. In: PEPPLER, H.J. & PERLMAN, D. Microbial technology; microbial processes. 2.ed. New York, Academic Press, 1979. V. I, cap. 4, p.93-155.
- LOWRY, O.H.; ROSEROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the folin fenol reagent. The Journal of Biological Chemistry, Baltimore, 193(1): 265-75, Nov, 1951.
- MATELES, R.I. & TANNEMBAUM, S.R. Single-cell protein. Cambridge, MCT Press, 1968. 480p.
- MARTIN, F.W. Processing of tropical root and tuber crops, the great potential. Tropical Roots and Tuber Crops Newsletter, (4): 51-2, 1971.
- MARTINELLI FILHO, A. & HESSELTINE, C.W. Temph fermentation package and tray fermentations. Food Technology, Champaign, 18(5): 167-71, Mai. 1964.
- MCCREADY, R.M.; GUGGOLZ, J.; SILVIERA, V.; OWENS, H.S. Determination of starch and amilose in vegetabels. Analytical Chemistry, Washington, 22(9): 1156-8, Set. 1950.
- MIALL, L.M. Historical development if the fungal fermentation industry. In: SMITH, J.E. & BERRY, D.R. The filamentous fungi; industrial mycology. London, Edward Arnold, 1975. V.I, cap. 6, p.104-19.

- MILLER, D.S. & BENDER, A.C. The determination of net utilization of protein by shortened method. British Journal Nutrition, New York, 9: 382-3, 1955.
- MOORE, S. On the determination of cysteine as cysteic acid. The Journal of Biological Chemistry, Baltimore, 238(1):235-37, 1963.
- NAHAS, E. & MACHADO, J.O. Estudos sobre a utilização de *Rhizopus oligosporus* em farelo de soja para a produção de "temph". Científica, Marília, 10(2): 217-23, fev. 1982.
- OKEZIE, B.O. & KOSIKOWSKI, F.V. Acid whey powder modification of gari from cassava. Journal of Dairy Science, Urbana, 64(3): 416-21, Mar. 1981.
- OKEZIE, B.O. & KOSIKOWSKI, F.V. Cassava as a food. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Boca Raton, 17(3): 259-75, Mar. 1982.
- OSBORNE, T.B.; MENDEL, L.B.; FERRY, E.L. A method of expressing numerically the growth promoting value of protein. The Journal of Biological Chemistry, Baltimore, 37: 223-5, 1919.
- PECHNIK, E. & GUIMARÃES, L.R. Sobre o aproveitamento da folha de mandioca (*Manihot* sp.) na alimentação humana. III Mandioca mansa. Arquivos Brasileiros de Nutrição, Rio de Janeiro, 18(1/2): 25-36, 1962.
- PETROBRÁS FERTILIZANTES S/A. Mandioca. Rio de Janeiro, A.d. 8p. s.d. (Projeto Produtividade Agrícola, 9).

PIMENTEL GOMES, F. Curso de estatística experimental. 10.ed. São Paulo, Nobel, 1982. 430p.

PIZZINATTO, A.; VITTI, P.; LEITÃO, R.F.F. Farinha de quirera de arroz em pão francês. Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, 52: 131-54, jul/ago, 1972.

RAO, S.N.R. & JULIANO, B.O. Effect of parboiling on some physiochemical properties of rice. Journal of Agricultural Food Chemistry, Easton Pa-USA, 18(2): 289-94, Mar/Abr, 1970.

READE, A.E. & GREGORY, K.F. High temperature production of protein-enriched feed from cassava by fungi. Applied Microbiology, Washington, 30(6): 897-904, dez. 1975.

REIS, A.J. dos. Aspectos econômicos da mandioca. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, 13(145): 3-8, jan. 1987.

ROBBINS, S.L.; COTRAN, R.S.; KUMAR, V. Patologia estrutural e funcional. 3.ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara S/A, 1986. 1404p.

SALES, A.M. Produção e avaliação nutricional de biomassa de mandioca fermentada. São Paulo, 1982. 66p. (Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas/Universidade de São Paulo).

SANTOS, S.M.P.C.C. Yes, nós temos bananas: estudo sobre os trabalhadores rurais da banana em Itanhaém. São Paulo, 1983. 257p. (Mestrado - Pontifícia Universidade Católica São Paulo).

SENEZ, J.C. Solid state fermentation of starchy substrate.
In: CONFERENCE ON THE STATE OF THE ART OF BIOCONSERVATION
OF ORGANIC RESIDUES FOR RURAL COMMUNITIES, Guatemala, 13-
15, November, 1978. Proceedings. p.18-20.

SHACKLADY, C.A. Hydrocarbon-grown yeasts in nutrition. In:
LAWRIE, R.A. Protein as human food. London, Butter Worts,
1970. p.317-27.

SILVA, J.R. da & AMARAL, A.C. do. O Sibrater está vencendo
mais um desafio. Revista Brasileira de Extensão Rural, Bra
sília, 6(1): 24-7, jan/fev, 1985.

SILVA, P.D. da. O arroz como alimento. Lavoura Arrozeira,
Porto Alegre, 22(252): 4-10, nov. 1969.

SILVA, P.D. da. O arroz como alimento: conclusão. Lavoura
Arrozeira, Porto Alegre, 23(253): 33-6, jan/fev. 1970.

SILVEIRA, A.H. da. Farinha de banana - processo completo de
fabricação. Chácara e Quintais, São Paulo, 74(4): 440 - 1,
out. 1946.

SIMMONDS, N.W. Composition and utilization; Composition nu
tricional value and quality; Utilizations of fruit-micella
neous uses; a note on bananas as ornamental plants. In:
SIMMONDS, N.W. Bananas tropical Agriculture Series. 2.ed.
London, Longman, 1982. cap. 9, p.252-75.

SOLOMONS, G.L. Fungal Microbiology Group Symposium, March,
1972; food from fungi. Journal of the Science of Food and
Agriculture, London, 24(5): 637-9, Mai. 1973.

- SOMOGYI, M. A new reagent for the determination of sugars. The Journal of Biological Chemistry, Baltimore, 160 (1): 61-8, Set. 1945.
- SPIKER, A. Protein production by micro-fungi. Tropical Science, London, 13(4): 239-50, Out/Dez, 1971.
- TEIXEIRA, J.P.F. & AZZINI, L.E. Teores de proteína, óleo, lisina e triptofano em grãos integrais de diversos cultivares de arroz. Bragantia Campinas, 35(2): 453-9, dez, 1976.
- THIEMANN, J.E. Produção de enzimas por fermentação em substrato semi-sólido com especial referência às celulasas. In: SIMPÓSIO DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA E BIOMASSA, 3, Maringá, 1987. Anais. p.107-31.
- TREVELYAN, W.E. The enrichment of cassavo with protein by moist-solids fermentation. Tropical Science, London, 16(4): 179-84, Out/Dez, 1974.
- VEIGA, A. de A. Banana verde dá farinha mais fácil. Cooper-cotia, São Paulo, 20(164): 30-1, jun. 1963.
- VILELA, E.R. & JUSTE JR., E.S.G. Tecnologia de farinha de mandioca. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, 13 (145): 60-2, jan. 1987.
- WANG, H.L. & HESSELTINE, C.W. Wheat tempeh. Cereal Chemistry, St. Paul, 43(5): 563-70, Set. 1966.

- WILSON, R.J. The processing of banana products for food use. Tropical Products Institute, G. London, (122): 3-10, Feb, 1979.
- WOOD, B.J.B. & MIN, Y.F. Oriental food fermentation. In: SMITH, J.E. & BERRY, D.R. The filamentous fungi. Industrial mycology. London, Edward Arnold, 1975. V.1, cap. 13, p.265-80.
- WORGAN, J.T. Protein production by micro-organisms from carbohydrate substrates. In: JONES, J.G.W. The biological efficiency of protein production. Cambridge, University Press, 1973. cap. 5, p.
- ZAMORA, R.G. & VEUM, T.L. Nutritive value of whole soybeans fermented with *Aspergillus oryzae* or *Rhizopus oligosporus* as evaluated by neonatal pigs. Protein and amino acids. Journal of Nutrition, Philadelphia, 118(4): 438-45, Abr. 1988.

A P Ê N D I C E S

Apêndice 1. Dados originais: Extrato etéreo (média de 3 repetições) em %.

Horas Fermentação	20	30	40	50	60	70	80
farinha de arroz com <i>A. niger</i>	0,3733	1,1767	1,7833	1,7000	2,1600	1,9267	2,1733
farinha de arroz com <i>R. oligosporus</i>	0,7867	2,9600	3,7267	3,8733	4,0733	3,4367	3,9033
farinha de arroz com <i>R. oryzae</i>	0,4133	1,9367	3,0533	3,2067	4,0967	3,0333	4,0033
farinha de banana com <i>A. niger</i>	0,5100	0,6133	0,6467	0,6733	0,5367	0,8600	0,9000
farinha de banana com <i>R. oligosporus</i>	0,5133	0,9333	0,6000	0,3700	0,6200	0,4067	0,6100
farinha de mandioca com <i>A. niger</i>	0,2833	0,8233	1,4967	1,3000	1,3667	1,8667	1,8900
farinha de mandioca com <i>R. oligosporus</i>	0,5967	1,7600	2,3033	3,0667	3,4367	2,8733	4,0200

Continua...

Apêndice 1. Dados originais: Proteína determinada pelo método de LOWRY et alii (1945).
(média de 4 repetições) em %.

Horas Fermentação	20	30	40	50	60	70	80
farinha de arroz fermenta- da com <i>A. niger</i>	7,5100	8,3225	8,5225	7,9075	8,5600	8,1500	7,5900
farinha de arroz fermenta- da com <i>R. oligosporus</i>	7,6450	15,1950	16,9750	21,0125	20,4725	17,2625	14,3875
farinha de arroz fermenta- da com <i>R. oryzae</i>	12,5100	12,9025	13,5400	11,5300	11,2700	10,5975	9,9800
farinha de banana fermenta- da com <i>A. niger</i>	5,2900	5,2550	5,3850	5,3900	5,4275	5,000	4,8525
farinha de banana fermenta- da com <i>R. oligosporus</i>	4,9325	5,1725	5,4975	6,2375	5,7250	5,4025	5,1275
farinha de mandioca fermenta- da com <i>A. niger</i>	2,5800	3,3100	3,7500	3,7125	2,7050	2,6450	2,5225
farinha de mandioca fermenta- da com <i>R. oligosporus</i>	8,6850	9,5850	10,7050	10,0775	9,7100	4,6650	3,3200

Continua...

Apêndice 1. Dados originais. Proteína determinada pelo método de Kjeldchl com prévio tratamento. (média de 3 repetições) em %.

Horas Fermentação	20	30	40	50	60	70	80
farinha de arroz fermenta- da com <i>A. niger</i>	7,7100	8,7433	9,7033	14,1633	9,1767	9,1967	9,0933
farinha de arroz fermenta- da com <i>R. oligosporus</i>	17,5133	19,4900	21,1133	21,3367	17,7033	17,7033	15,4767
farinha de arroz fermenta- da com <i>R. oryzae</i>	13,0333	13,5633	14,1033	11,8833	11,4933	11,7000	10,3667
farinha de banana fermenta- da com <i>A. niger</i>	9,0800	14,0633	14,8633	15,8667	13,9533	13,0300	7,5333
farinha de banana fermenta- da com <i>R. oligosporus</i>	10,5033	17,9867	18,7633	23,1500	16,7967	15,9900	15,3000
farinha de mandioca fermenta- da com <i>A. niger</i>	2,8533	3,4167	4,0767	5,0800	3,4367	3,5033	3,1567
farinha de mandioca fermenta- da com <i>R. oligosporus</i>	8,9000	10,4367	10,8633	10,3600	9,7467	5,3333	4,1167

Continua...

Apêndice 1. Dados originais. Carboidratos (média de 3 repetições) em %.

Horas Fermentação	20	30	40	50	60	70	80
farinha de arroz fermenta- da com <i>A. niger</i>	58,8167	59,2300	56,9333	55,8800	54,6333	52,7067	52,8400
farinha de arroz fermenta- da com <i>R. oligosporus</i>	59,5600	37,5067	28,3933	27,7167	23,4167	21,4100	13,8133
farinha de arroz fermenta- da com <i>R. oryzae</i>	64,2733	51,6733	42,1767	38,9000	33,1300	29,2967	24,8100
farinha de banana fermenta- da com <i>A. niger</i>	85,3967	84,5800	83,3333	80,5800	75,4467	73,4267	67,1167
farinha de banana fermenta- da com <i>R. oligosporus</i>	86,2967	84,6500	82,4300	82,0800	76,8667	75,1500	76,4700
farinha de mandioca fermenta- da com <i>A. niger</i>	89,3567	87,5633	85,3567	79,2867	72,4467	72,7267	67,7167
farinha de mandioca fermenta- da com <i>R. oligosporus</i>	87,7300	86,1300	85,7733	58,7233	50,3533	49,4267	47,1600

Continua...

Apêndice I. Dados originais. Cinzas. (média de 3 repetições) em %.

Horas Fermentação	20	30	40	50	60	70	80
farinha de arroz fermenta- da com <i>A. niger</i>	3,0067	2,9100	3,1233	3,2800	3,4433	3,4400	4,5233
farinha de arroz fermenta- da com <i>R. oligosporus</i>	2,9433	4,0333	5,0900	5,1733	6,1467	5,7267	5,6700
farinha de arroz fermenta- da com <i>R. oryzae</i>	2,9300	3,4667	3,5267	4,3333	4,7700	5,9800	5,4933
farinha de banana fermen- tada com <i>A. niger</i>	5,2933	5,4833	5,4900	5,1000	5,4533	5,1533	5,8633
farinha de banana fermen- tada com <i>R. oligosporus</i>	5,4600	5,5400	5,5100	4,5100	4,9300	5,6233	4,9067
farinha de mandioca fermen- tada com <i>A. niger</i>	2,8033	2,8700	3,3233	4,0367	4,2667	4,0067	4,2567
farinha de mandioca fermen- tada com <i>R. oligosporus</i>	5,0067	4,0367	4,2533	3,7333	3,9167	3,8433	5,3767

Continua...

Apêndice 1. Dados originais. Açúcares redutores. (média de 3 repetições) em %.

Horas Fermentação	20	30	40	50	60	70	80
farinha de arroz fermentada com <i>A. niger</i>	0,2067	1,6133	2,8333	1,2867	3,3033	1,4033	2,0767
farinha de arroz fermentada com <i>R. oligosporus</i>	7,5033	2,6667	1,9067	2,1967	3,4033	1,5267	2,9367
farinha de arroz fermentada com <i>R. oryzae</i>	4,0000	5,3933	9,1767	4,1467	3,2367	2,0200	1,3633
farinha de banana fermentada com <i>A. niger</i>	0,0033	0,0033	0,1700	0,1033	0,1167	0,1367	0,0200
farinha de banana fermentada com <i>R. oligosporus</i>	0,0067	0,0033	0,0633	0,1300	0,0033	0,0067	0,0000
farinha de mandioca fermentada com <i>A. niger</i>	0,2267	0,6000	0,8667	3,0000	1,8133	1,9933	3,2633
farinha de mandioca fermentada com <i>R. oligosporus</i>	7,6200	4,5400	6,2233	5,5767	8,4300	9,8667	3,9000

Continua ...

Apêndice 1. Dados originais. Fibras (média de 3 repetições) em %.

Horas Fermentação	20	30	40	50	60	70	80
farinha de arroz fermentada com <i>A. niger</i>	1,4167	1,4033	1,0200	1,4733	2,9933	2,8200	3,4800
farinha de arroz fermentada com <i>R. oligosporus</i>	0,8700	2,3900	3,9167	4,3933	4,2033	4,9633	4,2967
farinha de arroz fermentada com <i>R. oryzae</i>	1,0967	2,3667	2,5533	3,3267	2,9833	2,5400	2,7700
farinha de banana fermentada com <i>A. niger</i>	2,0067	2,1000	2,3200	1,9700	2,1267	1,6667	2,0033
farinha de banana fermentada com <i>R. oligosporus</i>	1,0700	1,1767	1,5867	1,1833	2,1200	1,2533	1,5967
farinha de mandioca fermentada com <i>A. niger</i>	1,5033	1,9267	2,8967	3,8267	4,2700	3,9267	4,4500
farinha de mandioca fermentada com <i>R. oligosporus</i>	2,7933	2,2867	3,5033	4,3767	4,1933	4,2233	5,2167

Apêndice 1. Dados originais. Consumo protéico dos animais (g/semana).

Dieta de farinha de arroz fermentada

Animais	1. ^a semana	2. ^a semana	3. ^a semana	4. ^a semana
1	5,60	4,37	3,89	4,26
2	6,46	4,88	4,47	3,67
3	6,93	4,80	4,53	3,75
4	7,20	5,33	3,96	3,11
5	6,26	4,80	3,98	3,79
6	4,73	3,95	3,86	3,07

Dieta de farinha de arroz

Animais	1. ^a semana	2. ^a semana	3. ^a semana	4. ^a semana
1	9,05	9,81	9,69	8,57
2	9,01	9,96	8,52	6,64
3	8,72	9,59	9,82	8,61
4	8,25	8,15	9,64	6,15
5	8,12	8,40	6,83	6,70
6	8,44	8,50	8,70	6,74

Dieta de caseína

Animais	1. ^a semana	2. ^a semana	3. ^a semana	4. ^a semana
1	8,86	8,06	8,74	10,07
2	9,61	10,39	9,40	10,30
3	9,87	9,18	8,75	8,54
4	9,05	8,86	8,19	9,04
5	9,45	10,32	10,11	10,27
6	8,67	9,03	10,29	10,39

Dieta aprotéica

Animais	1. ^a semana	2. ^a semana	3. ^a semana	4. ^a semana
1	0,68	0,56	0,39	0,59
2	0,70	0,52	0,69	0,40
3	0,71	0,66	0,45	0,38
4	0,77	0,74	0,61	0,47
5	0,89	0,88	0,49	0,54
6	0,69	0,52	0,44	0,41

Apêndice 1. Dados originais. Peso dos animais (g/semana).**Dieta de farinha de arroz fermentada**

Animais	Peso inicial	1. ^a semana	2. ^a semana	3. ^a semana	4. ^a semana
1	85,5	72,5	72,4	72,8	69,5
2	83,9	77,4	75,1	77,1	71,5
3	79,7	73,1	67,0	68,1	63,6
4	72,4	73,4	72,7	72,0	70,1
5	71,2	68,2	66,4	66,7	65,1
6	61,2	59,3	56,1	57,8	55,0

Dieta de farinha de arroz

Animais	Peso inicial	1. ^a semana	2. ^a semana	3. ^a semana	4. ^a semana
1	86,0	91,7	124,9	146,6	166,2
2	82,7	88,4	120,3	135,7	148,6
3	77,9	84,3	116,7	139,8	158,9
4	77,2	83,8	112,8	137,2	157,3
5	71,9	76,9	105,1	118,1	130,3
6	66,7	72,2	102,1	120,4	131,2

Dieta de caseína

Animais	Peso inicial	1. ^a semana	2. ^a semana	3. ^a semana	4. ^a semana
1	85,6	120,0	140,7	168,8	199,8
2	82,4	121,6	154,0	178,1	199,6
3	82,1	119,9	140,3	164,5	181,9
4	77,3	112,0	138,6	160,0	175,2
5	69,8	107,5	143,4	168,5	188,3
6	65,4	89,3	122,7	154,5	184,5

Dieta aprotéica

Animais	Peso inicial	1. ^a semana	2. ^a semana	3. ^a semana	4. ^a semana
1	85,3	76,3	73,7	67,4	71,4
2	82,2	74,2	73,0	67,7	66,7
3	78,0	70,3	69,8	63,7	64,3
4	74,8	67,7	66,6	62,2	60,9
5	71,2	66,5	65,7	60,2	59,9
6	65,6	60,2	58,7	57,0	55,8