ENRIQUECIMENTO PROTEICO DE RESÍDUOS DA FABRICAÇÃO
DE FARINHA DE MANDIOCA PELO DESENVOLVIMENTO
DE LEVEDURAS

LAURO MARQUES CANOILAS
Engenheiro de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. ANTONIO JOAQUIM DE OLIVEIRA

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: Ciência e
Tecnologia de Alimentos.

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Abril - 1991

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

Canoilas, Lauro Marques

C227e Enriquecimento protéico de resíduos da fabricação
de farinha de mandioca pelo desenvolvimento de leveduras. Piracicaba, 1991. 40p.
110p. illus.

Diss. (Mestre) - ESALQ
Bibliografia.

1. Farinha de mandioca - Resíduo 2. Levedura de
resíduo de mandioca 3. Mandioca - Fermentação 4. Re-
síduo industrial - Enriquecimento protéico 5. Resi-
duo industrial - Fermentação 6. Resíduo industrial -
Produção microbiana I. Escola Superior de Agricultu-
ra Luiz de Queiroz, Piracicaba.

CDD 664.23

ENRIQUECIMENTO PROTEICO DE RESIDUOS DA FABRICAÇÃO
DE FARINHA DE MANDIOCA PELO DESENVOLVIMENTO
DE LEVEDURAS

LAURO MARQUES CANOILAS

Aprovada em: 21.05.1991

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Antônio Joaquim de Oliveira ESALQ/USP

Prof. Dr. Luiz Eduardo Gutierrez ESALQ/USP

Profa. Dra. Marney Pascoli Cereda FCA/UNESP

Prof. Dr. ANTÔNIO JOAQUIM DE OLIVEIRA
Orientador

Aos meus pais, Laurindo e Jamile

Aos meus irmãos, Márcio e Luciano

A Ana Angélica,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Professor e orientador Antonio Joaquim de Oliveira pelo apoio, dedicação, amizade e orientação ao longo deste trabalho.

Ao Professor Luiz Eduardo Gutierrez, do Departamento de Química, da ESALQ/USP, pela valiosa contribuição na parte experimental deste trabalho.

À Professora Marney Pascoli Cereda, do Departamento de Tecnologia dos Produtos Agropecuários da Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP, pela contribuição prestada no desenvolvimento deste trabalho.

À Professora Marília Oetterer de Andrade, do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, da ESALQ/USP, pela amizade, incentivo e auxílio no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Durval Dourado Neto, do Departamento de Agricultura, da ESALQ/USP, pela amizade e a valiosa contribuição prestada ao longo deste trabalho.

As Professoras Maria Izalina Alves e Maria Cristina Stolf Nogueira, do Departamento de Matemática e Estatística, da ESALQ/USP, pela análise estatística dos dados.

Ao Professor Jorge Horii, do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, da ESALQ/USP, pelas informações e auxílio prestado.

A Técnica Cleomar Maria de Carvalho e ao estagiário Carlos Eduardo Garcia, do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, da ESALQ/USP, pela valiosa colaboração referente à parte experimental deste trabalho.

Aos estudantes de Pós-Graduação Luís Roberto Martin e Tadeu Alcides Marques da ESALQ/USP, pela amizade e auxílios prestados.

Às Bibliotecárias Kátia M. P. de Andrade, Eliana Maria G. Sabino e Silvana M. Gregório, da Biblioteca Central da ESALQ/USP, pela amizade e auxílios prestados.

Aos Funcionários Roberto Sidnei Martin, Luiz Carlos Rodrigues, Constante Christofolletti e Pedro Rossini, do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, da ESALQ/USP, pelos auxílios prestados.

À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", de modo particular ao Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial e especificamente aos professores e funcionários, pelas facilidades oferecidas para a execução deste trabalho.

À Fundação Tropical de Pesquisa e Tecnologia "Andre Tosello", na pessoa da pesquisadora Sílvia Yuko Eguchi pela valiosa contribuição prestada na classificação das leveduras.

À Direção e aos colegas do Instituto de Tecnologia e Pesquisa de Sergipe, pelo apoio financeiro e realização de análises químicas.

À Universidade Federal de Sergipe e a CAPES pelo apoio financeiro.

A todos que, direta e indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	xii
RESUMO	xix
SUMMARY	xxi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Composição química dos resíduos de mandioca e seu potencial uso na alimentação animal	4
2.2. Produção de proteína microbiana a partir da mandioca e/ou resíduos do seu processamento ...	7
3. MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1. Material	16
3.1.1. Matéria-prima	16
3.1.2. Microrganismo	20
3.1.3. Equipamentos	20
3.2. Métodos	21
3.2.1. Preparo do inóculo	21
3.2.2. Preparo dos substratos	24
3.2.3. Inoculação	24
3.2.4. Coleta de amostras	25
3.2.5. Preparo das amostras para as análises químicas	27

3.2.6. Análises químicas	27
3.2.7. Análise estatística	29
4. RESULTADOS	30
4.1. Análises químicas	30
4.1.1. Resíduo de mandioca	30
4.1.2. Resíduo de mandioca fermentado	31
4.2. Consumo de carboidratos totais (%) em períodos de tempo pré-determinado à temperatura ambiente e influência dos níveis de inóculo e pH	32
4.3. Consumo de carboidratos totais (%) em períodos de tempo pré-determinado à temperatura de 32 °C e influência dos níveis de inóculo e pH	37
4.4. Produção de nitrogênio insolúvel em TCA (%) em períodos de tempo pré-determinado à temperatura ambiente e influência dos níveis de inóculo e pH	40
4.5. Produção de nitrogênio insolúvel em TCA (%) em períodos de tempo pré-determinado à temperatura de 32 °C e influência dos níveis de inóculo e pH	46
4.6. Influência dos níveis de temperatura (ambiente e 32 °C) e de suas interações, sobre o consumo de carboidratos totais (%) ao longo dos períodos de incubação (12, 24, 36, 48 e 60 h)	57

4.7. Influência dos níveis de temperatura (ambiente e 32 °C) e de suas interações, sobre a produção de nitrogênio insolúvel em TCA (%) ao longo dos períodos de incubação (12, 24, 36, 48 e 60 h) .	59
5. DISCUSSÃO	76
5.1. Composição química do resíduo de mandioca não fermentado e fermentado	76
5.2. Consumo de carboidrato e produção de nitrogênio	79
6. CONCLUSÕES	84
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
APÊNDICES	96

LISTA DE FIGURAS

Figura n ^o	Página
1. Resíduos de mandioca provenientes da industrialização da farinha	18
2. Coletor de amostra	22
3. Esquema de propagação da levedura	23
4. Bandeja + resíduo de mandioca fermentado (Pontos de coleta de amostra)	26
5. Consumo de carboidrato (%) pelos microrganismos a pH = 4,53 e pH = 5,29 ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h) relativo a interação pH x período ...	36
6. Consumo de carboidrato (%) pelos microrganismos às temperaturas ambiente e 32 °C ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h)	40
7. Produção de nitrogênio (%) para os inóculos de 5 e 10% ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h) relativo a interação inóculo x período	46

8. Produção de nitrogênio (%) a partir dos inóculos de 5 e 10% ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h) relativo a interação inóculo x período	53
9. Produção de nitrogênio (%) pelos microrganismos a pH = 4,53 e pH = 5,29 ao longo dos períodos (12,24,36,48 e 60 h) relativo a interação pH x período	54
10. Produção de nitrogênio (%) pelos microrganismos às temperaturas ambiente e 32 °C ao longo dos períodos (12, 24, 36 ,48 e 60 h)	56
11. Consumo de carboidrato (%) e produção de nitrogênio (%) à temperatura ambiente, inóculo de 5% e pH = 4,53	68
12. Consumo de carboidrato (%) e produção de nitrogênio (%) à temperatura ambiente, inóculo de 5% e pH = 5,29	69
13. Consumo de carboidrato (%) e produção de nitrogênio (%) à temperatura ambiente, inóculo de 10% e pH = 4,53	70

14. Consumo de carboidrato (%) e produção de nitrogênio (%) à temperatura ambiente, inóculo de 10% e pH = 5,29	71
15. Consumo de carboidrato (%) e produção de nitrogênio (%) à temperatura 32 °C, inóculo de 5% e pH = 4,53	72
16. Consumo de carboidrato (%) e produção de nitrogênio (%) à temperatura 32 °C, inóculo de 5% e pH = 5,29	73
17. Consumo de carboidrato (%) e produção de nitrogênio (%) à temperatura 32 °C, inóculo de 10% e pH = 4,53	74
18. Consumo de carboidrato (%) e produção de nitrogênio (%) à temperatura 32 °C, inóculo de 10% e pH = 5,29	75

LISTA DE TABELAS

Tabela n ^o	Página
1. Composição química do resíduo de mandioca	30
2. Composição química do resíduo de mandioca fermentado (temperatura de 32 °C, inóculo de 10% e pH = 5,29) com 60 horas de incubação	32
3. Análise de variância referente ao consumo de carboidrato (%) à temperatura ambiente, com dois níveis de inóculo (5 e 10%) e pH (4,53 e 5,29) em períodos de tempo pré-determinado (12, 24, 36, 48 e 60 h)	34
4. Teste de Tukey para médias de consumo de carboidrato (%) dentro da interação pH x período ..	35
5. Equações de regressão que melhor estimam o consumo de carboidrato (%) pelos microrganismos relativa a interação pH x período	35

6. Análise de variância referente ao consumo de carboidrato (%) à temperatura de 32 °C, com dois níveis de inóculo (5 e 10%) e pH (4,53 e 5,29) em períodos de tempo pré-determinado (12, 24, 36, 48 e 60 h)	38
7. Equações de regressão que melhor estimam o consumo de carboidrato (%) pelos microrganismos às temperaturas ambiente e 32 °C ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h)	39
8. Análise de variância referente a produção de nitrogênio (%) à temperatura ambiente, com dois níveis de inóculo (5 e 10%) e pH (4,53 e 5,29) em períodos de tempo pré-determinado (12, 24, 36, 48 e 60 h)	43
9. Teste de Tukey para as médias de produção de nitrogênio (%) dentro da interação inóculo x pH ...	44
10. Teste de Tukey para as médias de produção de nitrogênio (%) dentro da interação inóculo x período	44

11. Médias da produção de nitrogênio (%) dentro dos níveis de pH	45
12. Equações de regressão que melhor estimam a produção de nitrogênio (%) pelos microrganismos relativa à interação inóculo x período	45
13. Análise de variância referente a produção de nitrogênio (%) à temperatura 32 °C, com dois níveis de inóculo (5 e 10%) e pH (4,53 e 5,29) em períodos de tempo pré-determinado (12, 24, 36, 48 e 60 h) ..	49
14. Médias da produção de nitrogênio (%) dentro dos níveis de inóculo	50
15. Médias da produção de nitrogênio (%) dentro dos níveis de pH	51
16. Teste de Tukey para as médias de produção de nitrogênio (%) dentro da interação inóculo x pH ...	51
17. Teste de Tukey para as médias de produção de nitrogênio (%) dentro da interação inóculo x período	52

Tabela n^o

Página

18. Teste de Tukey para as médias de produção de nitrogênio (%) dentro da interação pH x período ...	52
19. Equações de regressão que melhor estimam a produção de nitrogênio (%) pelos microrganismos relativa à interação inóculo x período	53
20. Equações de regressão que melhor estimam a produção de nitrogênio (%) pelos microrganismos relativa à interação pH x período	54
21. Equações de regressão que melhor estimam a produção de nitrogênio (%) pelos microrganismos às temperaturas ambiente e 32 °C ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h)	55
22. Taxas de produção de nitrogênio (%/h) às temperaturas ambiente e 32 °C ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h)	55

23. Análise de variância referente ao consumo de carboidrato (%) pelos microrganismos onde foram experimentados dois níveis de temperatura (ambiente e 32 °C), inóculo (5 e 10%) e pH (4,53 e 5,29) em períodos de tempo pré-determinado (12, 24, 36, 48 e 60 h)	58
24. Médias de consumo de carboidrato (%) dentro dos níveis de temperatura	59
25. Análise de variância referente a produção de nitrogênio (%) pelos microrganismos onde foram experimentados dois níveis de temperatura (ambiente e 32 °C), inóculo (5 e 10%) e pH (4,53 e 5,29) em períodos de tempo pré-determinado (12, 24, 36, 48 e 60 h)	62
26. Teste de Tukey para as médias de produção de nitrogênio (%) dentro da interação temperatura x inóculo	63
27. Teste de Tukey para as médias de produção de nitrogênio (%) dentro da interação temperatura x pH	63

28. Teste de Tukey para as médias de produção de nitrogênio (%) dentro da interação temperatura x período	64
29. Médias da produção de nitrogênio (%) dentro dos níveis de temperatura	64
30. Equações de regressão que melhor estimam o consumo de carboidrato (%) nos 8 tratamentos	66
31. Equações de regressão que melhor estimam a produção de nitrogênio (%) nos 8 tratamentos	67
32. Taxas de consumo de carboidrato (%/h) e produção de nitrogênio (%/h) à temperatura ambiente, inóculo de 5% e pH = 4,53	68
33. Taxas de consumo de carboidrato (%/h) e produção de nitrogênio (%/h) à temperatura ambiente, inóculo de 5% e pH = 5,29	69
34. Taxas de consumo de carboidrato (%/h) e produção de nitrogênio (%/h) à temperatura ambiente, inóculo de 10% e pH = 4,53	70

Tabela n^o

Página

35. Taxas de consumo de carboidrato (%/h) e produção de nitrogênio (%/h) à temperatura ambiente, inóculo de 10% e pH = 5,29	71
36. Taxas de consumo de carboidrato (%/h) e produção de nitrogênio (%/h) à temperatura 32 °C, inóculo de 5% e pH = 4,53	72
37. Taxas de consumo de carboidrato (%/h) e produção de nitrogênio (%/h) à temperatura 32 °C, inóculo de 5% e pH = 5,29	73
38. Taxas de consumo de carboidrato (%/h) e produção de nitrogênio (%/h) à temperatura 32 °C, inóculo de 10% e pH = 4,53	74
39. Taxas de consumo de carboidrato (%/h) e produção de nitrogênio (%/h) à temperatura 32 °C, inóculo de 10% e pH = 5,29	75

ENRIQUECIMENTO PROTEICO DE RESÍDUOS DA FABRICAÇÃO DE FARINHA DE MANDIOCA PELO DESENVOLVIMENTO DE LEVEDURAS

Autor: LAURO MARQUES CANOILAS

Orientador: PROF. DR. ANTONIO JOAQUIM DE OLIVEIRA

RESUMO

O objetivo da presente pesquisa consistiu em verificar a influência da temperatura, pH e inóculo, no desenvolvimento microbiano por fermentação semi-sólida do resíduo proveniente da industrialização da farinha de mandioca, de modo a conseguir o enriquecimento proteico do mesmo, tornando-o assim, um subproduto que além de maior valor biológico, possa trazer um certo retorno econômico para a indústria.

A linhagem de levedura isolada do próprio resíduo de mandioca e classificada como *Candida sorboxylosa* foi utilizada como inóculo no processo de fermentação semi-sólida.

Amostras nos tempos 0, 12, 24, 36, 48 e 60 horas de fermentação foram retiradas, secas em estufa e analisadas, para carboidratos totais e nitrogênio insolúvel em ácido tricloroacético (TCA).

Na fermentação conduzida à temperatura ambiente o efeito dos níveis de pH e inóculo, não foi significativo ($P \leq 0,05$) com relação ao consumo médio de carboidrato, o qual foi de 9,68% para o período de 60 h de fermentação, o mesmo ocorrendo para a temperatura de 32 °C, onde o consumo máximo de carboidrato foi de 12,11%. Com relação a produção média de nitrogênio à temperatura ambiente, os níveis de inóculo não interferiram significativamente ($P \leq 0,05$) na referida produção, porém houve diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre os níveis de pH, sendo que para o pH = 4,53, a produção média de nitrogênio foi maior (17,55%). Para a produção média de nitrogênio à temperatura de 32 °C, os níveis de inóculo e pH apresentaram diferenças significativas ($P \leq 0,05$) com relação à produção, sendo que para o inóculo de 10% e para o pH = 4,53, as produções de nitrogênio foram maiores, 20,74% e 23,02%, respectivamente.

A fermentação conduzida à temperatura de 32 °C, apresentou um maior consumo médio de carboidrato e maior produção média de nitrogênio do que a fermentação conduzida à temperatura ambiente.

PROTEIC ENRICHMENT OF BY-PRODUCTS FROM CASSAVA FLOUR PRODUCTION BY YEAST GROWTH

Author: LAURO MARQUES CANOILAS

Adviser: PROF. DR. ANTONIO JOAQUIM DE OLIVEIRA

SUMMARY

The objective of this research was to check the influence of temperature, pH and inoculum on microbic development in the semi-solid fermentation of residue from cassava flour manufacture to obtain its protein enrichment, thus making it a by-product which, besides having a greater biological value, could give a certain economic return to the industry.

The strain of yeast isolated from the cassava residue itself and classified as *Candida sorboxylosa* was used as inoculum in the semisolid fermentation process.

Samples were taken at intervals of 0, 12, 24, 36, 48 and 60 hours of fermentation, oven-dried and analysed for total carbohydrate and insoluble nitrogen in trichloroacetic acid (TCA).

In the fermentation conducted at room temperature, the effect of pH and inoculum levels was not significant ($P \leq 0,05$) in relation to the average consumption of carbohydrate, which was 9,68% for the 60 hour period of fermentation, the same occurring for the

temperature of 32 °C, where the maximum consumption of carbohydrate was 12,11%. With reference to the average production of nitrogen at room temperature, the levels of inoculum did not affect significantly ($P \leq 0,05$) its production, however, there was a significant difference ($P \leq 0,05$) between the levels of pH, since for pH = 4,53, the average production of nitrogen was higher (17,55%). For the average production of nitrogen at a temperature of 32 °C, the inoculum and pH levels showed significant differences ($P \leq 0,05$) in relation to production, since for 10% inoculum and for pH = 4,53, the productions of nitrogen were higher, i.e., 20,74% and 23,02% respectively.

Fermentation conducted at 32 °C showed a greater average consumption of carbohydrate and a greater average production of nitrogen than fermentation conducted at room temperature.

1. INTRODUÇÃO

A mandioca é uma importante cultura por constituir a base alimentar de uma parte considerável da população, em extensas regiões da África, Ásia e América Latina, embora seja um alimento pobre em proteína (1 a 2%).(SALES, 1972)

A raiz da mandioca pode ser utilizada industrialmente para a obtenção de produtos, tais como, farinha, fécula doce, fécula fermentada e tapioca, sendo que na obtenção desses produtos, alguns resíduos são obtidos. Na industrialização da farinha temos a casca, crueira, descarte e varredura como resíduos sólidos e a água da lavagem da raiz e a manipueira (água de prensa ou água residual) como resíduos líquidos. Na extração da fécula doce e/ou fermentada, temos a casca, descarte e farelo como os resíduos sólidos e água residual como resíduo líquido.

Há, atualmente, uma preocupação mundial com a ecologia na Terra, devido a agressão de vários fatores poluentes ao seu ecossistema, entre eles, podemos destacar os resíduos agro-industriais como potencial poluidor.

Portanto, torna-se importante estudar formas econômicas de tratamento e recuperação desses resíduos. Sendo o Brasil um dos maiores produtores de mandioca, onde seu consumo culinário e na forma de produtos industrializados é bastante representativo, podemos estimar que a quantidade de resíduos produzidos anualmente é suficiente para tornar preocupante com o seu potencial poluidor.

Vários trabalhos têm surgido ultimamente com respeito à utilização do resíduo líquido do processamento de mandioca, via fermentação submersa, (BALAGOPAL et alii, 1977; LAMO & MENEZES, 1979; FIORETTO, 1987); porém a literatura torna-se escassa quanto aos trabalhos de utilização dos resíduos sólidos de mandioca via fermentação semi-sólida, visando a obtenção de um resíduo proteico. A escassez de trabalhos com fermentação semi-sólida no ocidente se deve provavelmente ao fato de que após a II Guerra Mundial, com o advento das técnicas de fermentações submersas, somado ao acelerado desenvolvimento da indústria de antibióticos, houve uma tendência a substituir quase que totalmente os processos de fermentação semi-sólida pelos processos de fermentação submersa. O mesmo não ocorreu no Japão, onde se investiu intensamente no desenvolvimento de processos automatizados de fermentação semi-sólida. (THIEMANN, 1987). Apesar do desenvolvimento que este tipo de fermentação alcançou no Japão, pouca ou nenhuma informação sobre a engenharia desses processos é

disponível.

O objetivo da presente pesquisa, consistiu em verificar a influência da temperatura, pH e inóculo, no desenvolvimento microbiano por fermentação semi-sólida do resíduo proveniente da industrialização da farinha de mandioca, de modo a conseguir o enriquecimento proteico do mesmo, tornando-se assim, um subproduto que além de maior valor biológico, possa trazer um certo retorno econômico para a indústria.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Composição química dos resíduos de mandioca e seu potencial uso na alimentação animal

Segundo o RELATÓRIO DA REUNIÃO TÉCNICA SOBRE TRATAMENTO E APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS INDUSTRIAIS DE MANDIOCA (1988), são obtidos os seguintes resíduos durante o processamento da farinha de mandioca: casca (7 a 10%), crueira (resíduo obtido após a peneiragem da massa úmida - 3 a 4%), descarte (7 a 10%), varredura (resíduo equivalente ao produto final sedimentado nos pisos, maquinários e estrutura física da indústria), água de lavagem da raiz e manipueira (água de prensa ou água residual - 30%). Na extração da fécula, para produção de polvilho doce e/ou azedo, foram identificados os seguintes resíduos: casca (7 a 10%), descarte (1%), farelo (resíduo celulósico, energeticamente não esgotado que representa mais de 100% do peso da matéria-prima em virtude da absorção de água) e água residual. Por outro lado, nem todos esses resíduos têm a sua composição química bem definida.

MELOTTI (1972) determinou a composição química de quatro tipos de resíduos provenientes da industrialização da mandioca:

a) Farelo de Bagaço (subproduto da industrialização da fécula): umidade 10,15%; proteína bruta 1,64%; extrato etéreo 0,48%; fibra bruta 9,70%; matéria mineral 1,48%; extrato não nitrogenado 76,56%; cálcio 0,42%; fósforo 0,02%; celulose 9,82%.

b) Farelo de Farinha de Mesa (crueira): umidade 9,05%; proteína bruta 3,71%; extrato etéreo 0,86%; fibra bruta 6,92%; matéria mineral 1,85%; extrato não nitrogenado 77,62%; cálcio 0,32%; fósforo 0,02%; celulose 6,46%.

c) Farelo do Lavador (amostras coletadas em indústria que fabricavam farinha de raspas): umidade 6,29%; proteína bruta 2,96%; extrato etéreo 0,70%; fibra bruta 4,84%; matéria mineral 38,23%; extrato não nitrogenado 47,00%; cálcio 0,4%; fósforo 0,02%; celulose 5,18%; sílica 36,08%.

d) Farelo de Varredura (amostras coletadas em indústrias que fabricavam farinha de raspas): umidade 7,42%; proteína bruta 3,11%; extrato etéreo 0,92%; fibra bruta 7,58%; matéria mineral 2,75%; extrato não nitrogenado 78,22%; cálcio 0,36%; fósforo 0,03%; celulose 7,76%.

CEREDA & FIORETTO (1983) determinaram a composição química do resíduo líquido da mandioca (manipueira) e FIORETTO (1987) determinou a composição do farelo, ambos os resíduos provenientes da industrialização da fécula:

a) Manipueira: umidade 94,21%; cinzas 4,84%; carboidratos solúveis 1,19%; cianeto livre total (CN^-) 0,06%; nitrogênio 0,17%; cálcio 0,02%; fósforo 0,02%; potássio 0,17%.

b) Farelo: umidade 9,42%; amido 69,76%; lipídeos 0,65%; nitrogênio total 0,24%; proteína 1,51%; fibra 11,08%; cinzas 0,83%.

Segundo KOK (1942), o farelo de mandioca é um alimento incompleto devido as suas deficiências em proteína, matéria graxa, matéria mineral e vitaminas A e D, sendo muito rico em extrativos não nitrogenados (amido, principalmente). Determinações quantitativas de ácido cianídrico indicaram apenas a presença de leves traços desse princípio tóxico. O autor realizou experiências com vacas leiteiras e relatou a possibilidade de substituição total do fubá, em rações para esses animais, por uma mistura de 83 partes de farelo de raspas de mandioca e 17 partes de farelo de algodão, com ligeiras vantagens para a produção leiteira. Em um outro experimento, onde foi comparado o farelo de mandioca com o fubá na alimentação de porcos, o autor citou que a eficiência das rações, expressa

em quilos de alimentos por quilo de aumento de peso, foi praticamente idêntica para os dois alimentos testados.

VELLOSO et alii (1966) estudaram a substituição parcial e total do milho pelo farelo de mandioca em rações de suínos em crescimento e engorda, e observaram, dentro do limite estudado, que o crescente aumento do farelo de mandioca na ração implicou numa queda acentuada no ganho de peso e no índice de conversão alimentar.

2.2. Produção de proteína microbiana a partir da mandioca e/ou resíduos do seu processamento

Segundo RATTAKUL (1976), o resíduo do processamento de mandioca tem recebido pouca atenção como potencial substrato para a produção de proteína microbiana. O autor sugere, baseado em vários fatores e observações experimentais, que há possibilidade de produzir proteína microbiana a partir de resíduos amiláceos de mandioca a baixo custo, primeiro, devido ao pouco ou nenhum valor ou mesmo valor negativo desses resíduos (problema de poluição). Segundo, porque o emprego de leveduras amilolíticas diminui o custo do processo, por não exigir do pré-tratamento de hidrólise. Em terceiro lugar, as fontes de

nitrogênio (orgânica e inorgânica) a serem incorporadas ao sistema são relativamente baratas.

STRASSER et alii (1970) relataram os experimentos desenvolvidos em escala piloto pela Central Engineering Laboratories of F.M.C. Corp., para enriquecimento proteico de mandioca via fermentação submersa. Três diferentes linhagens de leveduras foram crescidas em mandioca hidrolisada e os seguintes teores de proteína foram obtidos: Mandioca + *Candida utilis* - 35% proteína bruta; Mandioca + *Rhodotorula gracilis* - 26,7% proteína bruta; Mandioca + *Hansenula saturnus* - 15,5% proteína bruta.

Três linhagens de leveduras amilolíticas (*Endomycopsis capsulata*, *Endomycopsis fibuligera* e *Schwanniomyces alluvius*) foram desenvolvidas em substrato de mandioca parcialmente hidrolisado via fermentação submersa. Os teores de proteína obtidos e a composição química dos aminoácidos foram comparados com aqueles de *Rhodotorula gracilis* (levedura não amilolítica), desenvolvida em substrato hidrolisado de mandioca, sendo que o maior teor de proteína foi obtido para *Schwanniomyces alluvius* (31,36%), ligeiramente maior que o teor para *Rhodotorula gracilis* (31,15%) e quanto à composição em aminoácidos foi semelhante para as leveduras amilolíticas e não amilolíticas (MENEZES et alii, 1972).

SCOTT (1975) desenvolveu um processo bioquímico (hidrólise enzimática do amido e/ou celulose e posterior cultivo de *Candida utilis* var. *major*) para síntese de proteína a partir de plantas contendo amido e celulose. Através da aplicação desse processo em substrato de mandioca, o autor conseguiu desenvolver um produto enriquecido com 45-70% de proteína.

NGA et alii (1976) executaram ensaios com duas linhagens de leveduras (*Torula utilis* e *Endomycopsis fibuligera*) em amido de mandioca via fermentação submersa. Os autores obtiveram um produto enriquecido com 4,76% de proteína quando foi utilizada *Endomycopsis fibuligera* e 4,30% de proteína para *Torula utilis*.

SALES & MENEZES (1976) estudaram a consorciação entre leveduras amilolíticas (*Endomycopsis fibuligera*, *Endomycopsis capsularis* e *Schwanniomyces alluvius*) com *Candida utilis* e *Rhodotorula gracilis* em fermentação submersa utilizando mandioca como substrato, tendo como objetivo obter uma boa relação entre açúcar consumido e biomassa produzida. Os autores observaram que a consorciação de *Endomycopsis fibuligera* com *Candida utilis* foi a que apresentou melhor rendimento em biomassa (11,0 g matéria seca/l), com um teor de proteína de 48,60% na matéria seca.

AZOULAY et alii (1980) estudaram o crescimento de *Candida tropicalis* em mandioca desidratada em pó, via fermentação submersa, tendo como objetivo o seu enriquecimento proteico. Deste experimento foi obtido um produto de mandioca enriquecido com 18,8% de proteína, além de níveis de lisina e metionina relativamente balanceados.

Cinco linhagens de fungos imperfeitos foram inoculados em meio contendo raiz integral de mandioca fresca e as culturas incubadas por quatro dias sob aeração. Ao final da fermentação, as hifas foram colhidas e após análises químicas, apresentaram os seguintes teores de proteína bruta: 13,31% para *Cladosporium* sp.; 18,92% para *Brachysporium oosporum*; 20,32% para *Linderina pennispora*; 20,32% *Cladosporium ladosporoides*; 23,82% para *Spicaria elegans* (GRAY & ABOUT-EL-SEOUD, 1966).

BROOK et alii (1969) estudaram o crescimento de várias linhagens de fungos em farinha de mandioca via fermentação submersa, tendo como objetivo a obtenção de proteína microbiana para posterior enriquecimento da mesma. As linhagens mais promissoras foram: *Heterocephalum aurantiacum*, *Cladosporium cladosporoides*, *Mucor racemosus* e *Rhizopus stolonifer*, onde foram encontrados teores de proteína bruta de 33,60%, 21,20%, 21,50% e 23,20%, respectivamente.

SALES et alii (1983) estudaram o crescimento de sete linhagens de fungos (*Rhizopus oligosporos*, *Rhizopus* sp., *Aspergillus niger*, *Aspergillus orizae*, *Aspergillus wentii*, *Aspergillus fumigatus* e *Neurospora sitophila*) para produção de biomassa em meio de mandioca via fermentação submersa e encontraram teores de proteína variando de 27,3 a 37,8%.

DAUBRESSE et alii (1987) desenvolveram um processo para enriquecimento proteico de mandioca via fermentação em substrato sólido a nível de planta piloto. Os autores utilizaram *Rhizopus oligosporos* como agente inoculante e obtiveram um produto enriquecido com aproximadamente 11% de proteína, além de mencionarem que o processo desenvolvido ofereceu vantagem de ser simples, confiável e econômico.

Estudos para tratamento biológico de efluentes de fábricas de processamento de fécula via fermentação submersa, através do uso de leveduras do gênero *Candida*, foram conduzidos na Índia. Os autores conseguiram um rendimento em biomassa de 100 a 403 mg/100 ml de efluente contendo 34,70% de proteína, além de uma redução global na Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) de cerca de 70% (BALAGOPAL et alii, 1977).

LAMO & MENEZES (1979) investigaram a conversão fúngica das águas residuais da mandioca para reduzir seu potencial poluidor e produzir biomassa. Foi

verificado que, entre as diversas linhagens fúngicas que se desenvolvem nesse resíduo, a linhagem *Gliocladium deliquescens* foi a mais eficiente para converter a matéria orgânica em biomassa (2450 mg/l), proporcionando em regime descontínuo e em condições assépticas uma redução de 79,3% na Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO).

FIORETTO (1987) estudou a viabilidade de cultivo de *Trichosporon* sp. em manipueira (resíduo líquido proveniente da industrialização da farinha de mandioca), através dos seguintes processos: cultivo em meio semi-sólido (farelo de mandioca proveniente do processamento da fécula), cultivo submerso agitado e aerado e cultivo em superfície. De acordo com os resultados obtidos, o autor concluiu que o cultivo em meio semi-sólido não apresentou bons resultados, provavelmente devido as características do agente e teor de umidade do sistema, além da ausência de enzimas amilolíticas e celulolíticas na levedura utilizada, sendo que o cultivo submerso e em superfície foram os que apresentaram melhores resultados, embora o processo submerso seja economicamente mais viável. Com relação ao potencial poluente e tóxico da manipueira, observou-se que a levedura utilizada nos experimentos não atuou efetivamente na remoção do cianeto e da diminuição da Demanda Química de Oxigênio (DQO) desse resíduo.

READE & GREGORY (1975), pesquisaram e desenvolveram um processo simples, não asséptico e de baixo custo para a conversão da mandioca em proteína microbiana via fermentação submersa, tendo como objetivo o uso na alimentação animal. Os testes preliminares culminaram no isolamento de um fungo termoresistente e produtor de amilase, designado I-21, identificado como *Aspergillus fumigatus*. A fermentação foi conduzida à temperatura de 45 °C e pH = 3,5, sendo obtido um produto fermentado contendo 36,9% de proteína bruta por litro. A conversão de carboidrato para proteína bruta foi de 22,1%.

SALES (1982) estudou o crescimento de espécies de *Rhizopus sp* e *Aspergillus niger* IZ-9 em fermentação semi-sólida utilizando mandioca como substrato, sendo obtido teores proteicos na biomassa seca de 8,05 e 10,85%, respectivamente. O autor cita que embora o *Aspergillus niger* IZ-9 tenha apresentado um teor mais elevado de proteína, este não poderia ser utilizado nem mesmo para ração animal, devido ao odor desagradável que este apresentou ao final da fermentação. A avaliação química e nutricional do micélio de *Rhizopus sp* foi obtida, onde foi constatado que este micélio constitui-se numa boa fonte de riboflavina e niacina, porém a proteína era deficiente em aminoácidos sulfurados. O micélio mostrou PER de 1,82, digestibilidade *in vivo* da proteína de 73% e valor proteico relativo, RPR, em relação à Caseína, de 81%.

SANTOS & GOMES (1983) realizaram uma avaliação nutricional de proteína fúngica (*Aspergillus fumigatus* I-21A) obtida a partir da fermentação de raízes frescas ou farinha de mandioca. A biomassa produzida foi seca ao sol e apresentou a seguinte composição percentual: proteína bruta (N x 6,25), 34,3; extrato etéreo, 3,1; fibra bruta, 20,0; cinzas, 4,3; extrato não nitrogenado, 27,9; cálcio, 0,20; fósforo, 0,79. A taxa de eficiência proteica (PER) e a taxa líquida de proteína (NPR) foram obtidas a partir do ensaio biológico com ratos, sendo administrados a estes, rações com proteína fúngica + DL-metionina e caseína. Através dos resultados obtidos, os autores concluíram que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre a ração com proteína fúngica + DL-metionina e a ração com caseína para os seguintes parâmetros: ração total consumida, ganho total de peso, consumo ração/ganho de peso, PER e NPR. Os autores também elaboraram um ensaio biológico utilizando suínos em fase de crescimento e final de crescimento (15,8 a 95,0 Kg), sendo administrada as seguintes dietas: 1) controle: farinha de soja + sorgo, 2) farinha de mandioca + farinha de soja + sorgo + 3% DL-metionina, 3) farinha de mandioca + proteína fúngica e 4) farinha de mandioca + proteína fúngica + 3% DL-metionina. Os suínos que receberam a dieta baseada em proteína fúngica sem adição de metionina, demoraram mais tempo ($p < 0,05$) para atingir o peso de mercado e apresentaram uma conversão

alimentar inferior ($P < 0,05$) aos suínos que receberam as outras dietas. A suplementação com DL-metionina, melhorou significativamente ($P < 0,05$) a qualidade nutritiva da proteína fúngica com resultados comparáveis aos obtidos com as dietas baseadas em farinha de soja. Os autores concluíram que o uso de proteína fúngica como substituto total da farinha de soja não afetou as condições físicas normais dos animais.

MUINDI & HANSSEN (1981) conduziram um estudo com frangos para estabelecer a quantidade de energia metabolizável, produção e digestibilidade aparente da proteína bruta e quantidade de aminoácidos em farinha de mandioca enriquecida com fungo (*Trichoderma harzianum*). Os autores encontraram para a farinha de mandioca enriquecida um valor de energia metabolizável de $9,1 \text{ MJkg}^{-1}$ (em base seca), sendo este valor significativamente mais baixo ($P < 0,05$) do que o valor encontrado para a farinha de mandioca não enriquecida ($12,2 \text{ MJkg}^{-1}$ em base seca). O conteúdo de proteína bruta para a farinha de mandioca enriquecida foi maior (37,6%) do que para a farinha de mandioca não enriquecida (2,4%). O coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta foi cerca de 60%, enquanto que para os aminoácidos foi de 81%. Os autores concluíram que os dados obtidos a partir deste estudo indicam que a farinha de mandioca enriquecida com *Trichoderma harzianum* pode ser utilizada na alimentação de frangos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

3.1.1. Matéria-prima

Foram utilizadas no presente trabalho, casca crueira e repique proveniente do lavador-descascador, esfarelador-desmembrador e repinicação (eliminação de pedaços de caules remanescentes e partes lesadas da raiz), respectivamente. Esses resíduos provenientes da industrialização da farinha de mandioca tiveram as seguintes procedências:

3.1.1.1. Crueira, casca e repique

Foram fornecidos pela Indústria de Farinha de Mandioca São Paulo LTDA, situada em Araras/SP. Esses resíduos encontravam-se úmidos, sendo parcialmente secos ao sol e completada a secagem em estufa comum a $60^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

3.1.1.2. Casca e crueira

Fornecidos pela Indústria de Produtos de Mandioca Primavera LTDA, localizada em Santa Maria da Serra/SP. A Crueira foi fornecida seca (secagem ao sol), sendo que a casca (úmida) foi parcialmente seca em estufa com circulação forçada de ar ($60^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) e completada a secagem, ao sol.

3.1.1.3. Repique

Fornecido pela Fábrica Piloto de Processamento de Farinha de Mandioca pertencente a Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu/SP. Esse resíduo encontrava-se úmido, sendo seco em estufa com circulação forçada de ar a $60^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Os resíduos de mandioca citados anteriormente podem ser visualizados na Figura 1.

Figura 1 - Resíduos de mandioca provenientes da industrialização da farinha: repique (A), casca (B) e crueira (C).

Cada resíduo foi individualmente misturado e homogeneizado manualmente.

Com auxílio de um Desintegrador-Picador e Moedor-Nogueira (DPM-4) foi promovida a moagem dos resíduos de mandioca separadamente, e após essa operação os resíduos

foram pesados, sendo obtidos 3520 g de casca (8,39 % de umidade), 6055 g de repique (10,91 % de umidade) e 10720 g de Crureira (9,63 % de umidade), perfazendo um total de 20295 g de resíduos.

Os resíduos de mandioca foram acondicionados individualmente em sacos plásticos com capacidade para 2000 g, os quais eram vedados com fita crepe. Todo o material acondicionado foi colocado dentro de um freezer doméstico vertical e deixado por um tempo de aproximadamente 68 horas a temperatura de -18°C . Este procedimento foi adotado para evitar a proliferação de insetos no resíduo devido a eclosão dos ovos¹.

Após a retirada do freezer, os resíduos (casca, crueira e repique) foram colocados na estufa por 20 minutos a $60^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e logo após deixados a temperatura ambiente para esfriar, sendo a seguir misturados e homogeneizados manualmente. Após a homogeneização, o material foi acondicionado em saco de linhagem com capacidade para 60000 g e conservado a temperatura ambiente. Esse material foi utilizado em todos os ensaios, como substrato para desenvolvimento microbiano.

¹.CEREDA, M.P. (Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu) Comunicação pessoal, 1989.

3.1.2. Microrganismo

Foi ensaiada para o enriquecimento do resíduo de mandioca uma linhagem de levedura: *Candida sorboxylosa* (Apêndices 1, 2, 3, 4 e 5), isolada de uma mistura de resíduos de mandioca (casca, crueira e repique), pelo Setor de Microbiologia do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial - ESALQ/USP, e classificada pela Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia "André Tosello". Esta linhagem foi cultivada em meio YEPD (extrato de levedura 10 g, peptona 10 g, dextrose 20 g e água destilada 1000 ml) a $32^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ /48 horas e mantida sob refrigeração, sendo repicada a cada 30 dias.

3.1.3. Equipamentos

3.1.3.1. Bandejas de alumínio.

Para o crescimento microbiano foram utilizadas 24 bandejas de alumínio (29 cm x 17 cm x 2,5 cm), com capacidade para 624 g de resíduo de mandioca úmido (70,15 % de umidade)/ bandeja.

3.1.3.2. Coletor de amostra

Para a coleta de amostra, foi utilizado um amostrador composto de um tubo de PVC ($\varnothing_i = 1,5$ cm; comprimento = 26 cm), conectado a um suporte de madeira contendo uma haste de metal (êmbolo), com um disco de borracha na extremidade com o mesmo diâmetro do tubo de PVC (Figura 2).

3.2. Métodos

3.2.1. Preparo do inóculo

Foi utilizado inicialmente um erlenmeyer de 3000 ml contendo 1000 ml de meio YEPD, sendo inoculado com uma suspensão de 10 ml de levedura em YEPD com 48 horas/ $32^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. O erlenmeyer de 3000 ml foi colocado em a um banho maria a $32^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e conectado a um sistema de arejamento (Figura 3). Após aproximadamente 50 horas de propagação, foi acrescentado ao erlenmeyer de 3000 ml mais 300 ml de meio YEPD. A multiplicação prosseguiu por mais ou menos 13 horas. A seguir foi realizada a contagem do número de células de leveduras por microscopia com auxílio de uma câmara de Neubauer.

Figura 2 — Coletor de amostra

Figura 3— Esquema de propagação da levedura

3.2.2. Preparo dos substratos

Para os ensaios com fermentação semi-sólida (8 tratamentos) foram utilizadas 24 bandejas, sendo que para cada tratamento foram utilizadas 3 bandejas.

Para a primeira bateria de bandejas (12 unidades), foram pesados em cada unidade, 209 g de resíduo composto de mandioca (10,28 % de umidade) e acrescentados 365 ml de água. Após a homogeneização da massa, encontrou-se um valor de pH de 5,29.

Para a segunda bateria de bandejas (12 unidades), também foram pesados 209 g de resíduo composto de mandioca (10,28 % de umidade), acrescentados 344 ml de água e 21 ml de H_2SO_4 0,1N, sendo que após a homogeneização da massa, esta apresentou um pH de 4,53.

3.2.3. Inoculação

Foram retirados do erlenmeyer de propagação (3000 ml), 31,2 ml de suspensão de levedura ($1,06 \times 10^8$ células/ml), centrifugada a 3000 rpm por 15 minutos e descartado o sobrenadante. Foram adicionados 50 ml de água destilada esterilizada para a ressuspensão da massa celular. Em cada unidade com capacidade para 624 g de resíduo úmido, num total de 12 bandejas (6 unidades com pH

= 5,29 e 6 com pH 4,53), foi vertida a suspensão de levedura, correspondente a 5 % de inóculo (V/P) ($5,30 \times 10^6$ células/ g substrato). A outra bateria de 12 bandejas (6 unidades com pH = 5,29 e 6 com pH = 4,53), foi inoculada com a mesma suspensão de levedura, porém representando 10 % de inóculo (V/P) ($1,06 \times 10^7$ célula/ g substrato).

A primeira bateria de bandejas (12 unidades) foi coberta individualmente com papel alumínio e colocada em estufa a $32 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ por 60 horas. A segunda bateria de bandejas (12 unidades), também recoberta com papel alumínio, foi mantida à temperatura ambiente (temperatura média de $21,8 \text{ }^\circ\text{C}$) e incubadas pelo mesmo espaço de tempo.

3.2.4. Coleta de amostras

Com o auxílio do amostrador (Figura 2), foram retiradas de cada bandeja, várias amostras do resíduo de mandioca úmido em períodos de 12 em 12 horas (Figura 4), até um total de 60 horas. As várias amostras coletadas de cada bandeja, foram misturadas e homogeneizadas, sendo obtida aproximadamente 25 g de amostra composta/bandeja/12 horas.

Figura 4 - Bandeja + resíduo de mandioca fermentado

3.2.5. Preparo das amostras para as análises químicas

As amostras do resíduo de mandioca (70,15 % de umidade) coletadas ao longo dos períodos (0, 12, 24, 36, 48 e 60 h) foram secas em estufa ($60^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) até atingirem um teor de umidade de aproximadamente 10 %, sendo então moídas (moinho ARTHUR H. THOMAS CO. - USA) e passadas numa peneira de 1 mm acoplada ao próprio moinho. A seguir as amostras foram acondicionadas em frascos de vidro (tampa rosqueada) e guardadas a temperatura ambiente.

3.2.6. Análises químicas

3.2.6.1. Resíduo de mandioca (casca + crueira + repique)

As análises de umidade, acidez em soluto alcalino normal, extrato etéreo, açúcares redutores totais, resíduo mineral fixo foram determinadas segundo metodologia de LARA et alii (1976). Para os minerais: Cu, Zn, Fe, Mn, Na, K, Ca e Mg, o extrato foi preparado segundo a metodologia de LARA et alii (1976) e lido num espectrofotômetro de absorção atômica (VARIAN modelo 175 Feixe Simples). A análise de fósforo foi determinada de acordo com SARRUGE (1974)

As determinações de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram feitas segundo a metodologia de SILVA (1981), sendo que para carboidratos totais, foi utilizada a metodologia de OSBORNE & VOGT (1978). Para a análise de cianeto total foi empregada a metodologia da COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (1978).

Para a análise de nitrogênio insolúvel em ácido tricloacético (TCA), foi utilizado TCA a 20 %, seguida de agitação por 15 minutos e centrifugação (3000 rpm/15 minutos). A determinação de nitrogênio foi feita no precipitado através do método Macro Kjeldahl, (SILVA, 1981).

3.2.6.2. Resíduo de mandioca fermentado

As análises de umidade, carboidratos totais, cianeto total, nitrogênio insolúvel em TCA, fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), foram feitas segundo as metodologias adotadas no item 3.2.6.1.

A produção de nitrogênio (%) foi calculada pela seguinte equação:

$$At = (Xt - Xo) / Xo$$

At = produção de nitrogênio (%) no tempo t

Xt = % nitrogênio ao longo do tempo t

Xo = % nitrogênio no tempo t = 0

Para o consumo de carboidrato (%) foi utilizada a mesma equação anterior.

3.2.7. Análise estatística.

O experimento consistiu de um delineamento inteiramente ao acaso com parcelas subdivididas no tempo. Na análise de variância foi aplicado o teste F para avaliar o efeito da ação dos tratamentos sobre a produção de nitrogênio e consumo de carboidratos. Pela análise de regressão foram encontradas as equações que melhor se adaptam aos dados observados em cada caso (GOMES, 1982). A comparação das médias foi feita pelo teste de TUKEY e para a verificação da correlação entre a produção e nitrogênio e consumo de carboidrato foi adotado o teste de Student (GOMES, 1982).

4. RESULTADOS

4.1. Análises químicas

4.1.1. Resíduo de mandioca

Os resultados das análises químicas do resíduo de mandioca com teor de umidade de 10,40%, são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição química do resíduo de mandioca (expresso em matéria seca).

Parâmetros	Resultados
Acidez (%) [*]	5,57
Nitrogênio Insolúvel em TCA (%)	0,25
Extrato etéreo (%)	0,70
Carboidratos totais (%)	67,61
Açúcares redutores totais (%)	7,66
Resíduo mineral fixo (%)	5,28
FDN (%)	33,90
FDA (%)	17,19
Cianeto total (ppm)	8,55

Tabela 1 - Composição química do resíduo de mandioca
(expresso em matéria seca).

Parâmetros	Resultados
Cu (ppm)	12,72
Zn (ppm)	8,26
Fe (ppm)	311,00
Mn (ppm)	27,90
Na (ppm)	324,00
K (ppm)	3783,48
Ca (ppm)	279,00
Mg (ppm)	75,78
P (ppm)	700,00

* em soluto alcalino normal (%)

4.1.2. Resíduo de Mandioca Fermentado

Os resultados das análises químicas apresentados na Tabela 2, são referentes ao resíduo de mandioca fermentado com teor de umidade de 10,01%, obtido do tratamento 8 (Temperatura de 32 °C, inóculo de 10% e pH = 5,29) com 60 horas de incubação.

Tabela 2 - Composição química do resíduo de mandioca fermentado (Temperatura de 32 °C, inóculo de 10% e pH = 5,29) com 60 horas de incubação (expressos em matéria seca).

Parâmetros	Resultados
Nitrogênio insolúvel em TCA (%)	0,33
Carboidratos totais (%)	59,04
FDN (%)	25,51
FDA (%)	17,69
Cianeto total (ppm)	6,69

4.2. Consumo de carboidratos totais em períodos de tempo pré-determinado à temperatura ambiente e influência dos níveis de inóculo e pH.

A análise de variância (Tabela 3) revelou que os níveis de inóculos (5 e 10%) utilizados nas fermentações não apresentaram diferenças significativas com relação ao consumo de carboidrato, sendo que o mesmo se verificou para os níveis de pH experimentados (4,53 e 5,29)

e também para a interação Inóculo x pH. Com relação aos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 horas), observou-se que houve diferença significativa a nível de 1% de probabilidade, no consumo de carboidrato ao longo dos períodos analisados. (Figura 6).

A interação inóculo x período não foi significativa, porém a interação pH x período revelou que houve diferença significativa a nível de 1% de probabilidade e de acordo com o teste de Tukey (Tabela 4), observou-se que apenas o período de 60 horas é que apresentou diferença significativa a nível de 1% de probabilidade para os níveis de pH experimentados (4,53 e 5,29), mostrando que houve uma resposta dos inóculos ao consumo de carboidratos nos referidos pHs, sendo que para o pH = 5,29 verificou-se um maior consumo médio de carboidrato (12,34%) quando comparado com o pH = 4,53 (7,90%).

Tabela 3 - Análise de variância referente ao consumo de carboidrato (%) à temperatura ambiente, com dois níveis de inóculo (5 e 10%) e pH (4,53 e 5,29) em períodos de tempo pré-determinado (12, 24, 36, 48 e 60 h).

CAUSAS DA VARIACAO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB. > F
Inóculo	1	4,931	4,931	0,268	0,62284 ^{NS}
pH	1	3,011	3,011	0,164	0,69711 ^{NS}
Inoc. * pH	1	75,130	75,130	4,081	0,07592 ^{NS}
Resíduo (A)	8	147,280	18,410		
Parcelas	11	230,351			
Período	4	467,875	116,969	39,529	0,00001 ^{**}
Inoc. * Per.	4	25,693	6,423	2,171	0,09405 ^{NS}
pH * Per.	4	66,404	16,601	5,610	0,00184 [*]
Inoc.*pH*Per.	4	10,116	2,529	0,855	0,50325 ^{NS}
Resíduo (B)	32	94,691	2,959		
TOTAL	59	895,130			

NS - Não significativo

* - Significativo $p \leq 0,05$

C.V. (A) = 33,23%

** - Significativo $p \leq 0,01$

C.V. (B) = 29,79%

Tabela 4 - Teste de Tukey para médias de consumo de carboidrato (%) dentro da interação pH x período.

pH	Período (horas)				
	12	24	36	48	60
4,53	2,293 ^a	3,382 ^a	6,243 ^a	7,930 ^a	7,903 ^a **
5,29	2,468 ^a	3,495 ^a	4,610 ^a	7,077 ^a	12,342 ^b **

** - Significativo $p \leq 0,01$

- Médias seguidas por letras distintas diferem entre si

As equações de regressão (referentes a interação pH x período) que melhor estimam o consumo de carboidrato e suas respectivas curvas estão apresentadas na Tabela 5 e Figura 5.

Tabela 5 - Equações de regressão que melhor estimam o consumo de carboidrato (%) pelos microrganismos relativa à interação pH x período.

pH	Equações de Regressão	Prob. > F
4,53	$Y = 0,8198 + 0,1314 * X$	0,00001**
5,29	$Y = 3,9140 - 0,1566 * X + 0,0049 * X^2$	0,00102**

** - Significativo $p \leq 0,01$

Figura 5 - Consumo de carboidrato (%) pelos microrganismos a pH = 4,53 e pH = 5,29 ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 horas) relativo à interação pH x período.

4.3. Consumo de carboidratos totais (%) em períodos de tempo pré-determinado à temperatura de 32 °C e influência dos níveis de inóculo e pH.

A análise de variância (Tabela 6) revelou que os níveis de inóculo (5 e 10%) não apresentaram diferenças significativas com relação ao consumo de carboidrato (%), sendo que o mesmo se verificou para os níveis de pH experimentados (4,53 e 5,29) e também para a Interação Inóculo x pH. Com relação aos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h), observou-se que houve diferenças significativas a nível de 1% de probabilidade e de acordo com a Figura 6, verificou-se que o consumo médio de carboidrato (%) aumentou ao longo dos períodos analisados.

As interações Inóculo x Período e pH x Período não foram significativas, ou seja, os níveis de inóculo (5 e 10%) e pH (4,53 e 5,29) não afetaram de maneira significativa o consumo de carboidrato (%) nos períodos estudados.

Tabela 6 - Análise de variância referente ao consumo de carboidrato (%) à temperatura de 32 °C, com dois níveis de inóculo (5 e 10%) e pH (4,53 e 5,29) em períodos de tempo pré-determinado (12, 24, 36, 48 e 60 h).

CAUSAS DA VARIACÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB. > F
Inóculo	1	0,463	0,463	0,039	0,84204 ^{NS}
pH	1	5,539	5,539	0,467	0,51923 ^{NS}
Inoc. * pH	1	6,228	6,228	0,524	0,50503 ^{NS}
Resíduo (A)	8	94,995	11,874		
Parcelas	11	107,225			
Período	4	461,725	115,431	22,750	0,00001 ^{**}
Inoc. * Per.	4	13,646	3,411	0,672	0,61866 ^{NS}
pH * Per.	4	32,429	8,107	1,598	0,19808 ^{NS}
Inoc.*pH*Per.	4	67,892	16,973	3,345	0,02110 [*]
Resíduo (B)	32	162,368	5,074		
TOTAL	59	845,284			

NS - Não significativo

* - Significativo $p \leq 0,05$

C.V. (A) = 18,80%

** - Significativo $p \leq 0,01$

C.V. (B) = 27,48%

As equações que melhor estimam o consumo de carboidrato às temperaturas ambiente e 32 °C e suas respectivas curvas estão apresentadas na Tabela 7 e Figura 6.

Tabela 7 - Equações de regressão que melhor estimam o consumo de carboidrato (%) pelos microrganismos às temperaturas ambiente e 32 °C ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 horas).

Temperatura (°C)	Equações de Regressão	Prob. > F
Ambiente	$Y = -0,0902 + 0,1629 * X$	0,00001**
32	$Y = 2,3388 + 0,1628 * X$	0,00001**

** - Significativo $p \leq 0,01$

As taxas do consumo de carboidrato (%/h) às temperaturas, ambiente e 32 °C, foram obtidas derivando as equações de regressão da Tabela 7, sendo encontrado um valor constante de 0,16%/h para ambas as temperaturas, o que significa que o consumo de carboidratos aumentou ao longo dos períodos analisados a taxa constante de 0,16 %/h.

Figura 6 - Consumo de carboidrato (%) pelos microrganismos às temperaturas ambiente e 32 °C ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h).

4.4. Produção de nitrogênio insolúvel em TCA (%) em períodos de tempo pré-determinado à temperatura ambiente e influência dos níveis de inóculo e pH.

A análise de variância (Tabela 8) revelou que os níveis de inóculo (5 e 10%) não apresentaram diferenças significativas com relação a produção média de nitrogênio, porém os níveis de pH experimentados (4,53 e 5,29) influenciaram a produção de nitrogênio, uma vez que houve diferença significativa a nível de 1% de

probabilidade, sendo que no pH = 4,53 a produção média de nitrogênio foi maior (17,55%) quando comparada com o pH = 5,29 (14,11%). (Tabela 11).

A interação Inóculo x pH foi significativa ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 8), indicando que a variação ocorrida na produção de nitrogênio não foi causada pela ação isolada do pH, mas por uma ação conjunta dos dois fatores, ou seja, pelo menos um dos níveis de inóculo se comportou de maneira distinta do outro com relação aos valores de pH experimentados. O teste de Tukey (Tabela 9) para a interação inóculo dentro pH, revelou que para o pH = 4,53, o inóculo de 5% apresentou uma produção média de nitrogênio de 19,63%, enquanto que com o inóculo de 10% a produção média de nitrogênio foi significativamente ($p \leq 1\%$) menor (15,47%). Porém com relação ao pH = 5,29, a produção média de nitrogênio foi a mesma para os dois níveis de inóculo. Ainda analisando a Tabela 9 para a interação pH dentro de inóculo, o teste de Tukey revelou que para o inóculo de 5%, os níveis de pH experimentados (4,53 e 5,29) apresentaram diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade, sendo que no pH = 4,53, a produção média de nitrogênio foi maior (19,63%) quando comparada com o pH = 5,29 (13,31%). Para o inóculo de 10%, o teste de Tukey revelou que os níveis de pH experimentados (4,53 e 5,29) não apresentaram diferenças significativas com relação a produção média de nitrogênio.

Os períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h) apresentaram diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade (Tabela 8), sendo possível afirmar que pelo menos em um dos períodos, a produção média de nitrogênio foi diferente em relação aos demais, apresentando um aumento na produção média de nitrogênio (%) ao longo dos períodos analisados. (Figura 10).

A interação Inóculo x Período foi significativa ao nível de 1% de probabilidade (Tabela 8) e o teste de Tukey (Tabela 10) revelou que apenas no período de 36 horas é que houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade para os níveis de inóculo experimentados (5 e 10%); sendo que com 5% de inóculo a produção média de nitrogênio foi maior (21,70%) quando comparada com o inóculo de 10% (14,60%).

Tabela 8 - Análise de variância referente a produção de nitrogênio (%) à temperatura ambiente, com dois níveis de inóculo (5 e 10%) e pH (4,53 e 5,29) em períodos de tempo pré-determinados (12, 24, 36, 48 e 60 h).

CAUSAS DA VARIACAO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB. > F
Inóculo	1	24,538	24,538	1,251	0,29622 ^{NS}
pH	1	177,195	177,195	9,032	0,01647 [*]
Inoc. * pH	1	124,387	124,387	6,340	0,03465 [*]
Resíduo (A)	8	156,956	19,620		
Parcelas	11	483,076			
Período	4	4145,926	1036,481	131,173	0,00001 ^{**}
Inoc. * Per.	4	131,531	32,883	4,162	0,00810 ^{**}
pH * Per.	4	4,462	1,116	0,141	0,96295 ^{NS}
Inoc.*pH*Per.	4	66,282	16,571	2,097	0,10351 ^{NS}
Resíduo (B)	32	252,853	7,902		
TOTAL	59	5084,131			

NS - Não significativo

* - Significativo $p \leq 0,05$

C.V. (A) = 12,52%

** - Significativo $p \leq 0,01$

C.V. (B) = 17,76%

Tabela 9 - Teste de Tukey para as médias de produção de nitrogênio (%) dentro da interação inóculo x pH.

Inóculo (%)	pH	
	4,53	5,29
5	19,6253 ^a *** A	13,3087 ^{ab} **
10	15,4667 ^b *** A	14,9093 ^{aA}

** - Significativo $p \leq 0,01$

- Médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si nas colunas.
- Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si nas linhas.

Tabela 10 - Teste de Tukey para as médias de produção de nitrogênio (%) dentro da interação inóculo x período.

Inóculo (%)	Período (horas)				
	12	24	36	48	60
5	3,695 ^a	8,833 ^a	21,695 ^{a***}	22,362 ^a	25,750 ^a
10	3,917 ^a	8,577 ^a	14,600 ^{b***}	23,535 ^a	25,312 ^a

** - Significativo $p \leq 0,01$

- Médias seguidas por letras distintas diferem entre si

Tabela 11 - Médias de produção de Nitrogênio (%) dentro dos níveis de pH.

pH	Médias (%)
4,53	17,546
5,29	14,109

Tabela 12 - Equações de regressão que melhor estimam a produção de nitrogênio (%) pelos microrganismos relativa a interação inóculo x período.

Inóculo (%)	Equações de Regressão	Prob. > F
5	$Y = -8,6720 + 1,0409 * X - 0,0078 * X^2$	0,00123**
10	$Y = -2,1365 + 0,4812 * X$	0,00001**

** - Significativo $p \leq 0,01$

Figura 7 - Produção de nitrogênio para os inóculos de 5% e 10% ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h), relativo a interação inóculo x período.

4.5. Produção de Nitrogênio Insolúvel em TCA (%) em Períodos de Tempo Pré-Determinado à Temperatura de 32 °C e Influência dos Níveis de Inóculo e pH.

A análise de variância (Tabela 13) revelou que houve diferença significativa a nível de 5% de probabilidade para os níveis de inóculo (5 e 10%) e a maior produção média de nitrogênio foi para o inóculo de 10%

(20,74%), enquanto que com 5% de inóculo esta foi de 17,31% (Tabela 14). Os níveis de pH experimentados (4,53 e 5,29) apresentaram respostas diferentes com relação a produção média de nitrogênio, sendo essa diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade e constatou-se que no pH = 4,53 houve uma maior produção média de nitrogênio (23,02%) quando comparado ao pH = 5,29 (15,03%). (Tabela 15).

A interação inóculo x pH foi significativa ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 13), indicando que a variação ocorrida na produção de nitrogênio não foi causada pela ação isolada dos inóculos ou pH, mas por uma ação conjunta dos dois fatores, ou seja, pelo menos um dos níveis de inóculo se comportou de maneira distinta do outro com relação aos valores de pH experimentados. O teste de Tukey (Tabela 16) para interação pH dentro de inóculo revelou que para o inóculo de 5%, os níveis de pH experimentados (4,53 e 5,29) apresentaram diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade, sendo que no pH = 4,53, a produção média de Nitrogênio foi maior (23,01%) quando comparado ao pH = 5,29 (11,60%). Para o inóculo de 10%, o teste de Tukey (tabela 16) revelou que os níveis de pH experimentados (4,53 e 5,29) não apresentaram diferenças significativas, ou seja, os níveis de pH não afetaram a produção média de Nitrogênio. Para interação inóculo dentro de pH, o teste de Tukey (Tabela 16) revelou que para o pH = 5,29, o inóculo de 10% apresentou uma maior

produção média de Nitrogênio (18,45%) quando comparado com o inóculo de 5% de levedura (11,60%), sendo essa diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade; porém com relação ao pH = 4,53, a produção média de Nitrogênio não foi significativa para os dois níveis de inóculos experimentados (5 e 10%).

De acordo com a Figura 10, a produção média de Nitrogênio aumentou ao longo dos períodos de incubação analisados (12, 24, 36, 48 e 60 h), sendo que as diferenças entre os períodos foram significativas ao nível de 1% de probabilidade (Tabela 13), para a produção média de nitrogênio.

A interação inóculo x período foi significativa ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 13) e o teste de Tukey (Tabela 17) revelou que os períodos de 36, 48 e 60 horas apresentaram diferenças significativas de 5,1 e 1% de probabilidade, respectivamente, para os níveis de inóculo experimentado (5 e 10%), sendo que as maiores produções médias de nitrogênio verificadas nos períodos citados, ocorreram com o inóculo de 10%.

Tabela 13 - Análise de variância referente a produção de nitrogênio (%) à temperatura de 32 °C, com dois níveis de inóculo (5 e 10%) e pH (4,53 e 5,29) em períodos de tempo pré-determinado (12, 24, 36, 48 e 60 h).

CAUSAS DA VARIACÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB. > F
Inóculo	1	176,508	176,508	6,167	0,03658*
pH	1	957,522	957,522	33,453	0,00068**
Inoc. * pH	1	175,275	175,275	6,124	0,03708*
Resíduo (A)	8	228,980	28,622		
Parcelas	11	1538,284			
Período	4	3477,158	869,290	121,120	0,00001**
Inoc. * Per.	4	213,937	53,484	7,452	0,00040**
pH * Per.	4	99,056	24,764	3,450	0,01857*
Inoc.*pH*Per.	4	40,663	10,166	1,416	0,25021 ^{NS}
Resíduo (B)	32	229,667	7,177		
TOTAL	59	5598,766			

NS - Não significativo

* - Significativo $p \leq 0,05$

C.V. (A) = 12,58%

** - Significativo $p \leq 0,01$

C.V. (B) = 14,08%

A interação pH x período foi significativa ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 13) e o teste de Tukey (Tabela 18) mostrou que todos os períodos analisados (12, 24, 36, 48 e 60 horas) apresentaram diferenças significativas de 5% para o período de 12 horas e de 1% de probabilidade para os demais períodos com relação aos níveis de pH experimentados (4,53 e 5,29), o que implica que houve uma resposta dos microorganismos sobre a produção média de nitrogénio nos referidos pHs. A maior produção média de nitrogénio observada ocorreu para os tratamentos com pH = 4,53 em todos os períodos experimentados.

Tabela 14 - Médias da produção de nitrogénio (%) dentro de níveis de inóculo.

Inóculo (%)	Médias (%)
5	17,307
10	20,737

Tabela 15 - Médias de produção de nitrogênio (%) dentro de níveis de pH.

pH	Médias (%)
4,53	23,017
5,29	15,027

Tabela 16 - Teste de Tukey para as médias de produção de Nitrogênio (%) dentro da interação Inóculo x pH.

Inóculo (%)	pH	
	4,53	5,29
5	23,0107 ^{aA} **	11,6027 ^a ** B **
10	23,0227 ^{aA}	18,4513 ^b ** B

* - Significativo $p \leq 0,05$

** - Significativo $p \leq 0,01$

- Médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si nas colunas.

- Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si nas linhas.

Tabela 17 - Teste de Tukey para médias de produção de nitrogênio (%) dentro da interação inóculo x período.

Inóculo (%)	Período (horas)				
	12	24	36	48	60
5	7,267 ^a	15,643 ^a	17,750 ^{a*}	21,677 ^{a***}	24,197 ^{a***}
10	5,442 ^a	15,368 ^a	22,708 ^{b*}	28,763 ^{b***}	31,403 ^{b***}

* - Significativo $p \leq 0,05$

** - Significativo $p \leq 0,01$

- Médias seguidas por letras distintas diferem entre si

Tabela 18 - Teste de Tukey para médias de produção de nitrogênio (%) dentro da interação pH x período.

pH	Período (horas)				
	12	24	36	48	60
4,53	8,833 ^{a*}	18,250 ^{a***}	25,057 ^{a***}	31,138 ^{a***}	31,805 ^{a***}
5,29	3,875 ^{b*}	12,762 ^{b***}	15,402 ^{b***}	19,302 ^{b***}	23,795 ^{b***}

* - Significativo $p \leq 0,05$

** - Significativo $p \leq 0,01$

- Médias seguidas por letras distintas diferem entre si

Tabela 19 - Equações de regressão que melhor estimam a produção de nitrogênio (%) pelos microrganismos relativa a interação inóculo x período.

Inóculo (%)	Equações de Regressão	Prob. > F
5	$Y = 0,3920 + 0,6858 * X - 0,0049 * X^2$	0,02033*
10	$Y = -6,7877 + 1,1107 * X - 0,0079 * X^2$	0,00077**

* - Significativo $p \leq 0,05$

** - Significativo $p \leq 0,01$

Figura 8 - Produção de nitrogênio (%) a partir dos inóculos de 5 e 10% ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h) relativo a interação inóculo x período.

Tabela 20 - Equações de regressão que melhor estimam a produção de nitrogênio (%) pelos microrganismos relativa a interação pH x período.

pH	Equações de Regressão	Prob. > F
4,53	$Y = -3,7453 + 1,1412 * X - 0,0090 * X^2$	0,00024**
5,29	$Y = 1,1130 + 0,3865 * X$	0,00001**

** - Significativo $p \leq 0,01$

Figura 9 - Produção de nitrogênio (%) pelos microrganismos a pH = 4,53 e pH = 5,29 ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 horas) relativo à interação pH x período.

Tabela 21 - Equações de regressão que melhor estimam a produção de nitrogênio (%) pelos microrganismos às temperaturas ambiente e 32 °C ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 horas).

Temperatura (°C)	Equações de Regressão	Prob. > F
Ambiente	$Y = -6,1180 + 0,8120 * X - 0,0046 * X^2$	0,00470**
32	$Y = -3,1978 + 0,8982 * X - 0,0064 * X^2$	0,00024**

** - Significativo $p \leq 0,01$

As taxas de produção de nitrogênio (%/h) nas temperaturas ambiente e a 32 °C, foram obtidas derivando as equações de regressão da Tabela 21, sendo obtidas as seguintes equações expressas na Tabela 22 e que representam as referidas taxas.

Tabela 22 - Taxas de produção de nitrogênio (%/h) às temperaturas ambiente e 32 °C ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h).

Temper. (°C)	Derivada das Equações de Regressão = Taxas de Produção de Nitrogênio (%/h)	Taxas de Produção de Nitrogênio (%/h) nos respectivos períodos (h)				
		12	24	36	48	60
Ambiente	$Y = 0,812 - 0,009 * X$	0,70	0,59	0,48	0,37	0,26
32	$Y = 0,898 - 0,013 * X$	0,74	0,59	0,49	0,28	0,13

A Tabela 22 mostra que as taxas de produção de nitrogênio (%/h) diminuíram ao longo dos períodos analisados.

Figura 10 - Produção de nitrogênio (%) pelos microrganismos às temperaturas ambiente e 32 °C ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 horas).

4.6. Influência dos níveis de temperatura (Ambiente e 32°C) e de suas interações, sobre o consumo de carboidratos totais (%) ao longo dos períodos de incubação (12, 24, 36, 48 e 60 h).

A análise de variância (Tabela 23) revelou que houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade para os níveis de temperatura experimentados (ambiente e 32 °C) e o maior consumo médio de carboidrato foi verificado à temperatura de 32 °C (8,20%), enquanto que à temperatura ambiente este foi de 5,77%. (Tabela 24).

As interações temperatura x inóculo, temperatura x pH e temperatura x período não foram significativas.

Tabela 23 - Análise de variância referente ao consumo de carboidratos (%) pelos microrganismos onde foram experimentados dois níveis de temperatura (Ambiente e 32 °C), inóculo (5 e 10%) e pH (4,53 e 5,29) em período de tempo pré-determinado (12, 24, 36, 48 e 60 h).

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB. > F
Temperatura	1	176,298	176,298	11,643	0,00378**
Inóculo	1	4,208	4,208	0,278	0,61078
pH	1	8,358	8,358	0,552	0,52559
Temp * Ino	1	1,186	1,186	0,078	0,77924 ^{NS}
Temp * pH	1	0,191	0,191	0,013	0,90807 ^{NS}
Inoc. * pH	1	62,309	62,309	4,115	0,05690
Temp*Ino*pH	1	19,048	19,048	1,258	0,27833 ^{NS}
Resíduo (A)	16	242,275	15,142		
Parcelas	23	513,873			
Período	4	917,312	229,328		0,00001
Temp * Per.	4	12,289	3,072		0,62465 ^{NS}
Inoc. * Per.	4	35,131	8,783		0,12096
pH * Per.	4	55,367	13,842		0,02446
Temp*Ino*Per.	4	4,208	1,052		0,92161
Temp.*pH*Per.	4	43,466	10,867		0,06276
Resíduo (B)	72	335,066	4,654		
TOTAL	119	1916,711			

NS - Não significativo

* - Significativo $p \leq 0,05$

C.V. (A) = 24,91%

** - Significativo $p \leq 0,01$

C.V. (B) = 30,88%

Tabela 24 - Médias de consumo de carboidrato (%) dentro dos níveis de temperatura.

Temperatura (°C)	Médias (%)
Ambiente	5,77
32	8,20

4.7. Influência dos níveis de temperatura (Ambiente e 32 °C) e de suas interações, sobre a produção de nitrogênio (insolúvel em TCA) (%) ao longo dos períodos de incubação (12, 24, 36, 48 e 60 h).

A análise de variância (Tabela 25) revelou que houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade para os níveis de temperatura experimentados (Ambiente e 32 °C) e a maior produção média de nitrogênio foi verificada à temperatura de 32 °C (19,02%), enquanto que à temperatura ambiente esta foi de 15,83%. (Tabela 29).

A interação temperatura x inóculo foi significativa ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 25), indicando que a variação ocorrida na produção de nitrogênio não foi causada pela ação isolada da temperatura, mas por uma ação conjunta dos dois fatores, ou seja, pelo menos um dos níveis de inóculo se comportou de maneira distinta do outro com relação às temperaturas. O teste de Tukey

(Tabela 26) para a interação temperatura dentro de inóculo revelou que para o inóculo de 10%, os níveis de temperatura experimentados (ambiente e 32 °C) apresentaram diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade, sendo que à temperatura de 32 °C, a produção média de nitrogênio foi maior (20,74%) quando comparada à temperatura ambiente (15,19%). Para o inóculo de 5%, o teste de Tukey (Tabela 26) revelou que os níveis de temperatura experimentados (ambiente e 32 °C) não apresentaram diferenças significativas, ou seja, os níveis de temperatura não afetaram a produção média de nitrogênio. Para a interação inóculo dentro de temperatura, o teste de Tukey (Tabela 26) revelou que para a temperatura de 32 °C, o inóculo de 10% apresentou uma maior produção média de nitrogênio (20,74%) quando comparado com inóculo de 5% (17,31%), sendo essa diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade, porém com relação à temperatura ambiente, a produção média de nitrogênio não foi significativa para os dois níveis de inóculo experimentados (5 e 10%).

A interação temperatura x pH foi significativa ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 25), indicando também que a variação ocorrida na produção de nitrogênio não foi causada pela ação isolada da temperatura ou pH, mas por uma ação conjunta dos dois fatores, ou seja, pelo menos um dos níveis de pH se comportou de maneira distinta do outro com relação às temperaturas. O teste de

Tukey (Tabela 27) para a interação temperatura dentro de pH revelou que para o pH = 4,53, os níveis de temperatura experimentados (Ambiente e 32 °C) apresentaram diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade, sendo que à temperatura de 32 °C, a produção média de nitrogênio foi maior (23,02%) quando comparada à temperatura ambiente (17,55%). Para o pH = 5,29, o teste de Tukey (Tabela 27) revelou que os níveis de temperatura experimentados (Ambiente e 32 °C) não apresentaram diferenças significativas, ou seja, os níveis de temperatura não afetaram a produção média de nitrogênio no referido pH. Para a interação pH dentro de temperatura, o teste de Tukey (Tabela 27) revelou que à temperatura ambiente e no pH = 4,53, houve uma maior produção média de nitrogênio (17,55%) quando comparado ao pH = 5,29 (14,11%), sendo essa diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade. Para a temperatura de 32 °C, também a produção média de nitrogênio foi maior (23,02%) para o pH = 4,53 do que para o pH = 5,29 (15,03%), sendo essa diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade.

A interação temperatura x período para a produção de nitrogênio foi significativa ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 25) e o teste de Tukey (Tabela 28) revelou que apenas o período de 24 horas apresentou diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade para os níveis de temperatura experimentados (Ambiente e

32 °C), sendo que a maior produção média de nitrogênio ocorreu à temperatura de 32 °C (15,51%).

Tabela 25 - Análise de variância referente a produção de nitrogênio (%) pelos microrganismos onde foram experimentados dois níveis de temperatura (Ambiente e 32 °C), inóculo (5 e 10%) e pH (4,53 e 5,29) em períodos de tempo pré-determinado (12, 24, 36, 48 e 60 h).

CAUSAS DA VARIACÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB. > F
Temperatura	1	306,113	306,113	12,691	0,00286**
Inóculo	1	34,712	34,712	1,439	0,24657
pH	1	979,265	979,265	40,598	0,00005
Temp * Ino	1	166,334	166,334	6,896	0,01750*
Temp * pH	1	155,451	155,451	6,445	0,02083*
Inoc. * pH	1	297,486	297,486	12,333	0,00314
Temp*Ino*pH	1	2,176	2,176	0,090	0,76472 ^{NS}
Resíduo (A)	16	385,936	24,121		
Parcelas	23	2327,473			
Período	4	7524,867	1881,217	229,780	0,00001
Temp * Per.	4	98,217	24,554	2,999	0,02359*
Inoc. * Per.	4	147,473	36,868	4,503	0,00298
pH * Per.	4	32,610	8,153	0,996	0,58341
Temp*Ino*Per.	4	197,995	49,499	6,046	0,00050
Temp.*pH*Per.	4	70,909	17,727	2,165	0,08060
Resíduo (B)	72	589,466	8,187		
TOTAL	119	10989,010			

NS - Não significativo

* - Significativo $p \leq 0,05$

C.V. (A) = 12,61%

** - Significativo $p \leq 0,01$

C.V. (B) = 16,42%

Tabela 26 - Teste de Tukey para as médias de produção de nitrogênio (%) dentro da interação temperatura x inóculo.

Temperatura (°C)	Inóculo	
	5	10
Ambiente	16,4670 ^{aA}	15,1880 ^{a** A}
32	17,3067 ^{aA**}	20,7370 ^{b** B**}

** - Significativo $p \leq 0,01$

- Médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si nas colunas.

- Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si nas linhas.

Tabela 27 - Teste de Tukey para as médias de produção de nitrogênio (%) dentro da interação temperatura x pH.

Temperatura (°C)	pH	
	4,53	5,29
Ambiente	17,5460 ^{a** A**}	14,1090 ^{aB**}
32	23,0167 ^{b** A**}	15,0270 ^{aB**}

** - Significativo $p \leq 0,01$

- Médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si nas colunas.

- Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si nas linhas.

Tabela 28 - Teste de Tukey para médias de produção de nitrogênio (%) dentro da interação temperatura x período.

Temperatura (°C)	Período (horas)				
	12	24	36	48	60
Ambiente	3,806 ^a	8,705 ^a **	18,148 ^a	22,948 ^a	25,531 ^a
32	6,354 ^a	15,506 ^b **	20,229 ^a	25,220 ^a	27,800 ^a

** - Significativo $p \leq 0,01$

- Médias seguidas por letras distintas diferem entre si

Tabela 29 - Médias de produção de nitrogênio (%) dentro dos níveis de temperatura.

Temperatura (°C)	Médias (%)
Ambiente	15,8275
32	19,0218

O teste de Student revelou que houve uma correlação positiva de 55,27% e 53,82% entre o consumo de carboidrato e a produção de nitrogênio para os dois níveis de inóculo (5 a 10%) e pH (4,53 e 5,29), aos níveis de significância de 1% de probabilidade, referentes às temperaturas ambiente e 32 °C, respectivamente.

As equações de regressão referentes aos oito tratamentos e que melhor estimam o consumo de carboidrato e produção de nitrogênio e suas respectivas curvas estão apresentadas nas Tabelas 30 e 31 e Figuras 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 e 18.

Tabela 30 - Equações de regressão que melhor estimam o consumo de carboidrato (%) nos 8 tratamentos.

Tratamentos	Equações de regressão	Prob. >F
t = 21,8°C Inóculo = 5% pH = 4,53	$Y = 0,5427 + 0,10006 X$	0,00086**
t = 21,8°C Inóculo = 5% pH = 5,29	$Y = 3,5767 - 0,0794 X + 0,0039 X^2$	0,04188*
t = 21,8°C Inóculo = 10% pH = 4,53	$Y = 1,0970 + 0,1628 X$	0,00001**
t = 21,8°C Inóculo = 10% pH = 5,29	$Y = 4,2513 - 0,2338 X + 0,0059 X^2$	0,00341**
t = 32°C Inóculo = 5% pH = 4,53	$Y = 5,1047 + 0,0661 X$	0,05959
t = 32°C Inóculo = 5% pH = 5,29	$Y = 0,7327 + 0,2223 X$	0,00001**
t = 32°C Inóculo = 10% pH = 4,53	$Y = 7,827 + 0,2089 X$	0,00002**
t = 32°C Inóculo = 10% pH = 5,29	$Y = 2,7350 + 0,1537 X$	0,00023**

* - Significativo $p \leq 0,05$

** - Significativo $p \leq 0,01$

Tabela 31 - Equações de regressão que melhor estimam a produção de nitrogênio (%) nos 8 tratamentos.

Tratamentos	Equações de Regressão	Prob. >F
t = 21,8°C Inóculo = 5% pH = 4,53	$Y = -6,1887 + 1,0185 X - 0,0069 X^2$	0,02810*
t = 21,8°C Inóculo = 5% pH = 5,29	$Y = -11,1553 + 1,0632 X - 0,0087 X^2$	0,00679**
t = 21,8°C Inóculo = 10% pH = 4,53	$Y = 0,6667 + 0,4111 X$	0,00001**
t = 21,8°C Inóculo = 10% pH = 5,29	$Y = -4,9397 + 0,5514 X$	0,00001**
t = 32°C Inóculo = 5% pH = 4,53	$Y = 0,7880 + 0,9144 X - 0,0068 X^2$	0,02358*
t = 32°C Inóculo = 5% pH = 5,29	$Y = 3,0827 + 0,2367 X$	0,00002**
t = 32°C Inóculo = 10% pH = 4,53	$Y = -8,2787 + 1,3679 X - 0,0113 X^2$	0,00066**
t = 32°C Inóculo = 10% pH = 5,29	$Y = -0,8567 + 0,5363 X$	0,00001**

* - Significativo $p \leq 0,05$

** - Significativo $p \leq 0,01$

Figura 11 - Consumo de carboidrato (%) e produção de nitrogênio (%) à temperatura ambiente, inóculo de 5% e pH = 4,53.

Tabela 32 - Taxas de consumo de carboidrato (%/h) e produção de nitrogênio (%/h) à temperatura ambiente, I = 5% e pH = 4,53.

Período (h)	Taxas de consumo de carboidrato (%/h)	Taxas de produção de nitrogênio (%/h)
12	0,10	0,85
24	0,10	0,69
36	0,10	0,52
48	0,10	0,36
60	0,10	0,19

Figura 12 - Consumo de carboidrato (%) e produção de nitrogênio (%) à temperatura ambiente, inóculo de 5% e pH = 5,29.

Tabela 33 - Taxas de consumo de carboidrato (%/h) e produção de nitrogênio (%/h) à temperatura ambiente, I = 5% e pH = 5,29.

Período (h)	Taxas de consumo de carboidrato (%/h)	Taxas de produção de nitrogênio (%/h)
12	0,01	0,85
24	0,11	0,65
36	0,20	0,44
48	0,30	0,23
60	0,39	0,02

Figura 13 - Consumo de carboidrato (%) e produção de nitrogênio (%) à temperatura ambiente, inóculo de 10% e pH = 4,53.

Tabela 34 - Taxas de consumo de carboidrato (%/h) e produção de nitrogênio (%/h) à temperatura ambiente, I = 10% e pH = 4,53.

Período (h)	Taxas de consumo de carboidrato (%/h)	Taxas de produção de nitrogênio (%/h)
12	0,16	0,41
24	0,16	0,41
36	0,16	0,41
48	0,16	0,41
60	0,16	0,41

Figura 14 - Consumo de carboidrato (%) e produção de nitrogênio (%) à temperatura ambiente, inóculo de 10% e pH = 5,29.

Tabela 35 - Taxas de consumo de carboidrato (%/h) e produção de nitrogênio (%/h) à temperatura ambiente, I = 10% e pH = 5,29.

Período (h)	Taxas de consumo de carboidrato (%/h)	Taxas de produção de nitrogênio (%/h)
12	-0,09	0,55
24	0,05	0,55
36	0,19	0,55
48	0,33	0,55
60	0,89	0,55

Figura 15 - Consumo de carboidrato (%) e produção de nitrogênio (%) à temperatura 32 °C, inóculo de 5% e pH = 4,53.

Tabela 36 - Taxas de consumo de carboidrato (%/h) e produção de nitrogênio (%/h) à temperatura de 32°C , I = 5% e pH = 4,53.

Período (h)	Taxas de consumo de carboidrato (%/h)	Taxas de produção de nitrogênio (%/h)
12	0,07	0,75
24	0,07	0,59
36	0,07	0,42
48	0,07	0,26
60	0,07	0,10

Figura 16 - Consumo de carboidrato (%) e produção de nitrogênio (%) à temperatura 32 °C, inóculo de 5% e pH = 5,29.

Tabela 37 - Taxas de consumo de carboidrato (%/h) e produção de nitrogênio (%/h) à temperatura de 32 °C, I = 5% e pH = 5,29.

Período (h)	Taxas de consumo de carboidrato (%/h)	Taxas de produção de nitrogênio (%/h)
12	0,22	0,24
24	0,22	0,24
36	0,22	0,24
48	0,22	0,24
60	0,22	0,24

Figura 17 - Consumo de carboidrato (%) e produção de nitrogênio (%) à temperatura 32 °C, inóculo de 10% e pH = 4,53.

Tabela 38 - Taxas de consumo de carboidrato (%/h) e produção de nitrogênio (%/h) à temperatura de 32 °C, I = 5% e pH = 4,53.

Período (h)	Taxas de consumo de carboidrato (%/h)	Taxas de produção de nitrogênio (%/h)
12	0,21	1,10
24	0,21	0,83
36	0,21	0,55
48	0,21	0,28
60	0,21	0,01

Figura 18 - Consumo de carboidrato (%) e produção de nitrogênio (%) à temperatura 32 °C, inóculo de 10% e pH = 5,29.

Tabela 39 - Taxas de consumo de carboidrato (%/h) e produção de nitrogênio (%/h) à temperatura de 32 °C, I = 10% e pH = 5,29.

Período (h)	Taxas de consumo de carboidrato (%/h)	Taxas de produção de nitrogênio (%/h)
12	0,15	0,54
24	0,15	0,54
36	0,15	0,54
48	0,15	0,54
60	0,15	0,54

5. DISCUSSÃO

5.1. Composição química do resíduo de mandioca não fermentado e fermentado.

Os dados sobre a composição química do resíduo de mandioca não fermentado (Tabela 1) mostram que este é constituído por um alto teor de carboidratos totais (67,61%), celulose, hemicelulose, lignina e proteína lignificada expressos como Fibra em Detergente Neutro (33,90%), porém apresentam um baixo teor de proteína (1,57% - calculado como nitrogênio insolúvel em TCA x 6,25), cálcio (279 ppm), fósforo (700 ppm) e magnésio (75,78 ppm). KOK (1942) determinou a composição química do farelo de raspas (pelas características apresentadas pelo autor quanto a obtenção deste farelo, este é bem similar a crueira): proteína bruta, 2,74%; matéria graxa, 0,56%; fibras, 2,07%; extrativo não nitrogenado, 74,78%; cinzas, 1,70%; cálcio, 0,29% e fósforo, 0,09% e concluiu que o farelo é muito pobre em proteína, matéria graxa e fósforo, sendo rico em extrativos não nitrogenados (amido, principalmente). O alto teor de material fibroso no resíduo de mandioca não fermentado foi devido a

incorporação de cascas nesse resíduo, o que pode ser evidenciado no trabalho de MELOTTI (1972) para o farelo de farinha de mesa (Crueira) o qual apresentou um teor médio de fibra de 5,56%, sendo que este mesmo farelo mais o acréscimo de cascas moídas elevou o teor de fibra para 15,08%. Os dados apresentados sobre o teor de fibra presente na casca marrom (41,00%) e entre casca (6,00%) pertencentes ao RELATÓRIO DA REUNIÃO TÉCNICA SOBRE APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS INDUSTRIAIS DA MANDIOCA (1988) reforçam as evidências comentadas anteriormente com relação a maior contribuição da fibra ser proveniente das cascas.

Através da análise de Fibra em Detergente Neutro (FDN) obtém-se basicamente celulose, hemicelulose, lignina e proteína lignificada, sendo que a determinação de Fibra em Detergente Ácido (FDA) obtém-se na quase totalidade lignina e celulose, e conhecendo a porcentagem de FDN e FDA, por diferença é possível calcular a fração de hemicelulose, que se constitui de polímeros de pentoses, e especialmente de D-xilanas, que são polímeros de D-xilose em ligação β (1 $\rightarrow$ 4) com as cadeias laterais de arabinose e outros açúcares (SILVA, 1981 e LEHNINGER, 1978).

Por meio das Tabelas 1 e 2, foi possível calcular o teor de hemicelulose do resíduo de mandioca não fermentado (16,71%) e para o resíduo de mandioca fermentado (7,82%), sendo verificada uma redução de 53,20% no teor de hemicelulose, o que pode ser devido à atividade dos

microrganismos presentes naturalmente no resíduo, uma vez que este não foi tratado termicamente. Caso tenha havido a liberação da D-xilose a partir da quebra da hemicelulose é bem provável que a levedura utilizada como inóculo (*Candida sorboxylosa*) tenha assimilado a referida pentose, por ser xilose positiva. (Apêndice 4). A degradação de vários resíduos celulósicos a partir da atividade dos microrganismos via processos fermentativos foram relatados em vários trabalhos (KUMAR & SINGH, 1990; TOYAMA, 1976; MENEZES et alii, 1989; ULMER et alii, 1981; VIESTURS et alii, 1981). O teor de celulose e lignina expressos como FDA apresentaram praticamente o mesmo valor para os resíduos de mandioca não fermentado e fermentado.

O teor de cianeto total presente no resíduo de mandioca não fermentado e fermentado (Tabelas 1 e 2) apresentou uma redução de 18,25%, que pode ser devido a uma operação a mais de secagem sofrida pelo resíduo de mandioca fermentado, bem como às atividades dos microrganismos ao longo da fermentação. O ácido cianídrico tem como origem um glicosídico cianogênico, Linamarina, que pela ação da enzima endógena linamarase, libera ácido cianídrico, glicose e acetona (SALES, 1972). O ácido cianídrico também pode ser liberado pela secagem da raiz ao sol ou pelo cozimento (PEREIRA, 1987), bem como pela atividade de microrganismos; o que pode ser

evidenciado no trabalho de LEGRAS et alii (1990), onde foi utilizado *Brevibacterium* sp R312 para a detoxificação de polpa de mandioca in natura, sendo observado uma redução de 70-80% dos compostos nitrilos, em particular os cianoglicosídeos e α -hidroxinitrilos.

5.2. Consumo de carboidrato e produção de nitrogênio

Analisando os dados da Tabela 3 e 8, observou-se a não significância dos níveis de inóculo com relação ao consumo de carboidrato e produção de nitrogênio à temperatura ambiente, pode ser explicado devido ao fraco desenvolvimento da levedura a essa temperatura, permitindo deste modo o desenvolvimento de outros microorganismos presentes naturalmente no resíduo, fato este que pode ser observado quando se constatou que no período final de fermentação (60 horas), o consumo de carboidrato a pH = 5,29 foi maior do que a pH = 4,53, o qual é mais favorável ao desenvolvimento da levedura e menos favorável ao desenvolvimento de outros microorganismos, principalmente bactérias. STRASSER (1968) relata algumas condições de processo para a propagação de leveduras: pH ótimo, 4-4,5; necessidades de ar, 0,5-1,2 vezes o volume do meio por minuto; temperatura, para início do processo de propagação: 26 °C, mais tarde 30 - 35 °C. O maior consumo de carboidrato a pH = 5,29 não implicou numa maior produção de nitrogênio, quando comparada ao pH = 4,53. A provavel

explicação para este fato é que no pH = 5,29, o desenvolvimento de outros microorganismos prevaleceu sobre a levedura, sendo que o consumo de carboidrato por esses microorganismos seguiu uma via fermentativa (produção de ácidos, por exemplo), sendo o pH = 4,53 mais favorável para o desenvolvimento da levedura, a produção de biomassa foi maior, acarretando portanto uma maior produção de nitrogênio. Esse resultado está de acordo com o trabalho de YANG (1988), que consistiu na condução de experimentos com fermentação semi-sólida a pH = 4,50 e resíduos de batata doce como substrato e levedura amilolítica como inóculo, sendo obtidos teores de proteína de 16,11 a 20,82%. Os autores também relataram uma baixa contagem de bactérias contaminantes após a fermentação. Outros autores (RAIMBAULT et alii, 1985; GREGORY et alii, 1977; READE & GREGORY, 1975; RAIMBAULT & ALAZARD, 1980; CARRIZALEZ et alii, 1981) também obtiveram aumentos significativos no teor de proteína por fermentação semi-sólida e submersa de substratos à base de mandioca, usando fungos como inóculo e pH do meio $\leq 4,5$.

Na fermentação conduzida à temperatura de 32 °C, os níveis de inóculo e pH não apresentaram diferenças significativas com relação ao consumo de carboidrato (Tabela 6), porém esses mesmos fatores apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) para a produção de nitrogênio (Tabela 13), sendo verificado uma

maior produção com o inóculo de 10%. Estes resultados estão em conformidade com os de YANG (1988), onde foi experimentado no processo fermentativo dois níveis de inóculo (*Saccharomyces* sp IF01426), sendo que para os inóculos com $1,0 \times 10^7$ células/ml e $1,0 \times 10^8$ células/ml, foram obtidos produtos fermentados com teores de proteína de 16,11 a 20,82%, respectivamente.

Analisando os dados da Tabela 23, observou-se que houve uma diferença significativa ($p \leq 0,01$) para os níveis de temperatura experimentado com relação ao consumo de carboidrato, sendo verificado um maior consumo à temperatura de 32°C , porém de modo geral, esse consumo foi muito baixo, principalmente com relação ao amido, o qual foi estimado a partir das Tabelas 1 e 2 e foi encontrado um valor quase desprezível (0,91%). A razão desse baixo consumo de amido é devido a ausência de enzimas amilolíticas presentes na levedura utilizada como inóculo, sendo que a maior contribuição para a produção de nitrogênio foi a partir do consumo de açúcares redutores totais (7,66%) presentes no resíduo e dos açúcares provenientes da degradação da hemicelulose (51,20%), principalmente a D-xilose, açúcar assimilável por essa espécie de leveduras. Esse relato está de acordo com a afirmação de TUSÉ (1984), segundo o qual, os materiais liberados a partir da quebra da biomassa da planta (celulose, proteína, amido, etc.) não são assimilados a

taxas iguais, sendo que os aminoácidos, proteínas, açúcares solúveis etc, podem ser preferencialmente utilizados, seguidos pela hemicelulose, amido e finalmente a celulose e lignina serão utilizados mais vagarosamente.

Os níveis de temperatura experimentados (Tabela 25) apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,01$) com relação a produção de nitrogênio, sendo verificada uma maior produção à temperatura de 32 °C. Mesmo considerando as melhores condições (pH = 4,5, inóculo de 10% e temperatura de 32 °C) para a produção de nitrogênio, foi constatado que esta produção não é satisfatória, o que está relacionado com a baixa capacidade da levedura empregada de utilizar carboidratos, o que segundo PHAFF et alii (1978) é fator limitante para o desenvolvimento de leveduras, uma vez que estes se constituem na principal fonte de carbono e energia.

Observando a Figura 6 e 10 notamos que o consumo de carboidratos para os dois níveis de temperatura (ambiente e 32 °C) obedeceu o comportamento de uma reta crescente com taxas de consumo iguais para as duas temperaturas experimentadas, sendo que a produção de nitrogênio obedeceu uma parábola (taxas de produção decrescente), ou seja, ao final de 60 horas de fermentação já existe uma tendência a estabilização na produção de nitrogênio, sendo que esses resultados estão de acordo com o trabalho de VARGHESE et alii (1977), onde foram

conduzidos diversos experimentos com fermentação semi-sólida da mandioca com fungos (*Rhizorus*, *Aspergillus* e *Neurospora*) isolados a partir da mandioca e seus derivados. Neste trabalho foi encontrado uma pequena produção de proteína, elevando-se de 2,54% inicial para 3,0%. Os autores conduziram os mesmos experimentos, porém fizeram uma suplementação do substrato com 35% de esterco de galinha e obtiveram uma elevação nos níveis de proteína de 8-10,5%, sendo que com soja, amendoim e farelo de abacaxi a 25%, os níveis de proteína foram 40, 10 e 7%, respectivamente.

Um fator que pode ter contribuído para a baixa eficiência do processo de fermentação semi-sólida do resíduo composto de mandioca, foi a constatação de que os teores dos microelementos (Tabela 1) presentes no resíduo composto de mandioca estavam acima daqueles necessários ao desenvolvimento de fungos, que segundo MOORE-LANDECKER (1972) podem variar de 0,001 a 0,5 ppm, afirmando o mesmo autor que quantidades muito maiores que a requerida, geralmente são tóxicas. Esse fato também pode ser comprovado no trabalho de BROOK et alii (1969), onde foram conduzidos experimentos com fermentação semi-sólida da mandioca, sendo utilizados *Rhizopus oligosporus* M175 como inóculo. Os autores concluíram que zinco (0,2 ppm), ferro (0,2 ppm) e manganês (0,2 ppm) foram inibidores para o processo.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permite concluir que:

- Os níveis de inóculo e pH não afetaram significativamente o consumo de carboidrato referentes às fermentações conduzidas às temperaturas ambiente e 32 °C.

- A fermentação conduzida à temperatura ambiente, os níveis de inóculo, não interferiram significativamente na produção de nitrogênio, porém os níveis de pH interferiram significativamente ($p \leq 0,05$) na produção de nitrogênio, sendo que no pH = 4,5 foi obtido melhor resultado.

- A fermentação conduzida à temperatura de 32 °C, os níveis de inóculo e pH afetaram significativamente ($p \leq 0,05$) a produção de nitrogênio, sendo que os melhores resultados foram obtidos para inóculo de 10% e para o pH = 4,53, respectivamente.

- Os níveis de temperatura afetaram significativamente ($p \leq 0,01$) o consumo de carboidrato e a produção de nitrogênio, sendo que os resultados mais promissores foram obtidos à temperatura de 32 °C.

- Mesmo adotando as melhores condições experimentadas nesse trabalho, a produção de nitrogênio obtida foi muito baixa, sugerindo-se portanto a necessidade de otimização do processo, como por exemplo, a consorciação de leveduras amilolíticas e não amilolíticas, suplementação do substrato com minerais, principalmente N, Mg, etc., para torná-lo viável biológica e economicamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

BALAGOPAL, C.; MAINI, S.B.; HRISHI, N. Microbial treatment of starch factory effluents and the production of single cell protein. Journal of Root Crops, Trivandrum, 3(2): 47-50, 1977.

BROOK, E.J.; STANTON, W.R.; WALLBRIDGE, A. Fermentation methods for protein enrichment of cassava. Biotechnology and Bioengineering, New York, 11(6): 1271-84, 1969.

CARRIZALEZ, V.; RODRIGUES, H.; SARDINA, I. Determination of the specific growth of molds on semi-solid cultures. Biotechnology and Bioengineering, New York, 23: 321-33, 1981.

CEREDA, M.P. & FIORETTO, A.M.C. Produção de biomassa de *Trichosporon* sp em líquido residual de feculária. Botucatu, DTPA - FCA/UNESP, 1983. 212p. (Relatório Científico).

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. Determinação de cianeto em água: método da piridina-pirazalona ou nitrato de prata, com destilação prévia; normalização técnica, L5 112. São Paulo, 1978. 12p.

DAUBRESSE, P.; NTIBASHIRWA, S.; GHEYSEN, 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, 1987.

FIORETTO, A.M.C. Viabilidade de cultivo de *Trichosporon* sp. em manipueira. Botucatu, 1987. 96p. (Mestrado - Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu/UNESP).

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

GRAY, W.D. & ABOU-ET-SEOUD, M.O. Fungal protein for food and feeds. III. Manioc as a potential crude raw material for tropical areas. Economic Botany, New York, 20(3): 251-5, 1966.

GREGORY, K.F.; MEIERING, A.G.; AZI, F.A.; SEDGWICK, J.A.D.; CUNNINGHAM, J.D.; MACLEAN, S.J.; SANTOS-NUNEZ, J.; GOMEZ, G. Establishment of pilot plant for the production of fungal protein from cassava. In: SYMPOSIUM OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR TROPICAL ROOT CROPS, 4., Cali, 1976. Proceedings. Ottawa, IDRC, 1977. p.267-70.

KOK, E.A. O farelo de raspas de mandioca na alimentação dos animais. Boletim de Indústria Animal, São Paulo, 5(4): 195-205, 1942.

KUMAR, N. & SINGH, K. Chemical and microbiological changes during solid substrate fermentation of wheat straw with *Coprinus fimeratus*. Biological Wastes, Essex, 33: 231-42, 1990.

LAMO, P.R. & MENEZES, T.J.B. Bioconversão das águas residuais do processamento de mandioca para produção de biomassa. Coletânea do ITAL, Campinas, 10: 1-14, 1979.

- LARA, A.B.W.H.; NAZÁRIO, G.; ALMEIDA, M.E.W.; PREGNOLATTO, W. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 2.ed. São Paulo, Instituto Adolfo Lutz, 1976. v.1.: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 371p.
- LEGRAS, J.L.; JORY, M.; ARNAUD, A.; GALZY, P. Detoxification of cassava pulp using *Brevibacterium* sp. R312. Applied Microbiology and Biotechnology, New York, 33: 529-33, 1990.
- LEHNINGER, A.L. Açúcares, polissacarídeos de reserva e paredes celulares. In: _____. Bioquímica. São Paulo, Edgard Blucher, 1978. v.1.: Componentes moleculares das células, p.169-89.
- MELOTTI, L. Contribuição para o estudo da composição química e valor nutritivo dos resíduos da industrialização da mandioca, *Manihot utilissima*, POHL, no Estado de São Paulo. Boletim de Indústria Animal, São Paulo, 29(2): 339-74, 1972.
- MENEZES, T.J.B. & LAMO, P.R. Bioconversão das águas residuais do processamento de mandioca para produção de biomassa. Coletânea do ITAL, Campinas, 10: 1-14, 1979.

MENEZES, T.J.B.; FIGUEIREDO, I.B.; STRASSER, J. Proteína monocelular de leveduras amilolíticas. Coletânea do ITAL, Campinas, 4: 109-16, 1971/72.

MENEZES, T.J.B.; SALVA, T.J.G.; BALDINI, V.L.; PAPINI, R.S.; SALES, A.M. Protein enrichment of citrus wastes by solid substrate fermentation. Process Biochemistry, Herts, 24(5): 167-71, oct. 1989.

MOORE-LANDECKER, E. Fundamentals of the fungi. New York, Prentice-Hall, 1972. 482p.

MUINDI, J. & HANSEN, J.F. Nutritive value of cassava root meal enriched by *Trichoderma harzianum* for chickens. Journal of the Science Food and Agriculture, London, 32(7): 647-54, july. 1981.

NGA, B.H.; TAN, E.L.; LEE, T.K. Protein enrichment of carbohydrate rich substrate by two strains of yeast. Singapore Journal of Primary Industries, Singapore, 4(1): 11-5, 1976.

OSBORNE, D.R. & VOOGT, P. Carbohydrates. In: _____. The analysis of nutrients in food. London, Academic Press, 1978. p.130-55. (Food Science and Technology: A series of monographs).

PEREIRA, J.P. Utilização de raspas e resíduos industriais da mandioca na alimentação bovina. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, 13(145): 28-31, jan. 1987.

PHAFF, H.J.; MILLER, M.W.; MRAK, E.M. Nutrition and growth. In: _____. The life of yeast. 2.ed. Cambridge, Harvard University Press, 1978. p.163-82.

RATTAKUL, B. Single cell protein production from cassava starch by yeast. Provo, 1976. 96p. (Doctor of Philosophy - Brigham Young University).

RAIMBAULT, M. & ALAZARD, D. Culture method to study fungal growth in solid fermentation. European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology, New York, 9: 199-209, 1980.

RAIMBAULT, M.; REVAH, S.; PINA, F.; VILLALOBOS, P. Protein enrichment of cassava by solid substrate fermentation using molds isolated from traditional foods. Journal of Fermentation Technology, Osaka, 63(4): 395-9, 1985.

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

REUNIÃO TÉCNICA SOBRE TRATAMENTO E APROVEITAMENTO DE
RESÍDUOS INDUSTRIAIS DE MANDIOCA, Botucatu, 1988.
Botucatu, FCA - DTPA/UNESP, 1988. 6p.

SALES, A.M. Enriquecimento da farinha de mandioca por
fermentação. Campinas, 1972. 61p. (Mestrado -
Faculdade de Tecnologia de Alimentos/UNICAMP).

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

SALES, A.M. & MENEZES, T.J.B. Produção de biomassa
proteica de mandioca. Coletânea do ITAL, Campinas, 7:
139-46, 1976.

SALES, A.M.; LAJOLO, F.M.; MENEZES, T.J.B.; SHIROSE, I.
Aproveitamento da biomassa de mandioca fermentada na
alimentação animal. I. Produção, composição química e
valor nutritivo do micélio *Rhizopus* sp. obtido por
fermentação submersa. Coletânea do ITAL, Campinas, 13:
59-79, 1983.

SANTOS, J. & GOMES, G. Fungal protein produced on cassava
for growing rats and pigs. Journal of Animal Science,
Champaign, 56(2): 264-70, 1983.

SARRUGE, J.R. & HAAG, H.P. Análise química em plantas. Piracicaba, ESALQ/Depto de Química, 1974. 55p.

SCOTT, H.L. Biochemical process for the synthesis of protein from cellulose and starch-containing plants. Patente industrial (Estados Unidos) nº 604.239. 13 ago. 1975.

SILVA, D.J. Análise de alimentos; métodos químicos e biológicos. Viçosa, U.F.V., 1981. 166p.

STRASSER, J. Accelerated protein production from low grade carbohydrates. Santa Clara, F.M.C. Corporation/Central Engineering Laboratories, 1968. 19p. (Technical Report, R-2643).

STRASSER, J.; ABBOTT, J.A.; BATTEY, R.F. Process enriches cassava with protein. Food Engineering, Radnor, 42(5): 112-6, 1970.

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.

TOYAMA, N. Feasibility of sugar production from agricultural and urban cellulosic wastes with *Trichoderma viride* cellulase, Biotechnology and Bioengineering Symposium, New York, 6: 207-19, 1976.

TUSE, D. Single-cell protein: current status and future prospects. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Boca Raton, 19(4): 273-325, 1984.

VARGUESE, G.; THAMBIRAJAH, J.J.; WONG, F.M. Protein enrichment of cassava by fermentation with microfungi and the role of natural nitrogenous supplements. In: SYMPOSIUM OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR TROPICAL ROOT CROPS, 4., Cali, 1976. Proceedings. Ottawa, IDRC, 1977. p.250-5.

ULMER, D.C.; TANGERDY, R.P. Solid-state fermentation of steam-treated feedlot waste fibers with *Chaetomium cellulolyticum*. Biotechnology and Bioengineering Symposium, New York, 11: 449-61, 1981.

VELLOSO, L.; RODRIGUES, A.J.; BECKER, M.; PAULIN NETO, L.;
SCOTT, W.N.; KALIL, E.B.; MELOTTI, L.; ROCHA, G.L.
Substituição parcial e total do milho pelo farelo de
mandioca em rações de suínos em crescimento e engorda.
Boletim de Indústria Animal, São Paulo, 23: 127-37,
1965/66.

VIESTURS, U.E.; APSITE, A.F.; LAUKEVICS, J.J.; DSE, V.P.;
BEKERS, M.J. Solid-state fermentation of wheat straw
with *Chaetomium cellulolyticum* and *Trichoderma lignorum*.
Biotechnology and Bioengineering Symposium, New York,
11: 359-69, 1981.

YANG, S.S. Protein enrichment of sweet potato residue with
amilolytic yeast by solid-state fermentation.
Biotechnology and Bioengineering, New York, 32: 886-90,
1988.

APÊNDICES

Apêndice 1 – Dados referentes a classificação da levedura *Candida sorboxylosa* fornecidos pela Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia "André Tosello".

Colônia em meio sólido	Características Macromorfológicas			
	Forma	Superfície	Borda	Elevação
Meio: GYPA				
Incubação: 20°C/3 dias	CIRCULAR	RUGOSA	CILIADA	ELEVADA

Colônia em meio sólido	Características Macromorfológicas		
	Pigmentação	Opacidade	Consistência
Meio: GYPA			
Incubação: 20°C/3 dias	AUSENTE	OPACO	MACIA

Cultura em meio líquido	Características Macromorfológicas			
	Sedimento	Película	Ilhas	Anel
Meio: GYP				
Incubação: 28°C/21 dias	Escasso e coerente	Ausente	Ausente	Ausente

Apêndice 2 - Dados referentes a classificação da levedura *Candida sorboxylosa* fornecidos pela Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia "André Tosello".

Morfologia e Citologia	Características Micromorfológicas			
	Forma	Reprodução celular	Micélio	Esporos Sexuais
Meio: GYP Incubação: 28°C/48 h	Subglobosa, Elipsóide e Cilíndrica	Multipolar	Pseudo- micélio tipo Candida	Ascosporos Ausente

Características de Crescimento	Teste	
	Positivo	Negativo
Crescimento a 37°C	X	
Tolerância a 10% de NaCl		X
Tolerância a 50% de Glicose	X	

Apêndice 3 - Dados referentes a classificação da levedura
Candida sorboxylosa fornecidos pela Fundação
 Tropical de Pesquisa de Pesquisa e Tecnologia
 "André Tosello".

Fermentação de Açúcares	Dias							
	1	2	3	4	7	8	11	15
Glicose	a	a	a	a	A	A	A b	A 0,5*
Galactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Sacarose	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	a	a	a	a	a	-	-	-
Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Rafinose	-	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	-	-	-	-	-	-	-	-
Trealose	-	-	a	a	a	a	-	-
Celobiose	-	-	-	-	-	-	-	-
Melezitose	-	-	-	-	-	-	-	-
Amido	-	-	-	-	-	-	-	-

(a): Acidez fora do tubo de Durham

(A): Acidez dentro e fora do tubo de Durham

(b): Produção de gás

(*): Volume de gás formado (escala de 0 a 5)

(-): Negativo

Apêndice 4 - Dados referentes a classificação da levedura *Candida sorboxylosa* fornecidos pela Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia "André Tosello".

Assimilação de Fontes de Carbono	Semanas		
	Primeira	Segunda	Terceira
Glicose	+++	+++	+++
Galactose	+	+	+
Sacarose	-	-	-
Maltose	-	-	-
Lactose	-	-	-
Celobiose	-	-	-
Trealose	+	+	+
Rafinose	-	-	-
Melizitose	-	-	-
Amido	-	-	-
Inulina	-	-	-
D-Xilose	+++	+++	+++
L-Arabinose	-	-	-
D-Arabinose	-	-	-
D-Ribose	-	-	-
L-Ramnose	+	+	++

Apêndice 4 - Dados referentes a classificação da levedura *Candida sorboxylosa* fornecidos pela Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia "André Tosello".

Assimilação de Fontes de Carbono	Semanas		
	Primeira	Segunda	Terceira
Etanol	+++		
Glicerol	-	-	-
Adonitol	-	-	-
Dulcitol	-	-	-
D-Manitol	-	-	-
D-Sorbitol	-	-	-
Salicina	-	-	-
Ácido Láctico	++	++	+++
Ácido Succínico	-	++	
Ácido Cítrico	-	-	-
Inositol	-	-	-
Metanol	-	+	

- ou + : negativo

++ ou +++ : positivo

Apêndice 5 - Dados referentes a classificação da levedura *Candida sorboxylosa* fornecidos pela Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia "André Tosello".

Assimilação de Fontes de Nitrogênio	Semanas	
	Primeira	Segunda
NaNO ₂	-	-
KNO ₃	-	-
Etilamina	++	
L-Lisina	-	-

- : negativo

++ : positivo

Testes complementares	Teste	
	Positivo	Negativo
VFB		x
Hidrólise de uréia		x
Hidrólise de arbutina		x
Produção de ácidos	x	

Apêndice 6 - Consumo de carboidratos totais (%) e produção de nitrogênio (%) ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h) referente ao tratamento 1 (temperatura ambiente, inóculo de 5% e pH = 4,53).

Código das bandejas amostradas	Consumo de carboidratos totais (média de 3 repetições) em % nos períodos (horas)				
	12	24	36	48	60
24A	1,01	3,03	3,84	7,94	4,08
24B	0,81	3,64	5,89	6,33	6,84
24C	2,35	2,26	2,34	6,44	5,37

Código das bandejas amostradas	Produção de nitrogênio (média de 3 repetições) em % nos períodos (horas)				
	12	24	36	48	60
24A	8,33	12,50	25,00	25,00	29,17
24B	1,88	8,00	20,00	24,00	28,00
24C	8,33	12,50	29,17	29,17	33,33

Apêndice 7 - Consumo de carboidratos totais (%) e produção de nitrogênio (%) ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h) referente ao tratamento 2 (temperatura ambiente, inóculo de 10% e pH = 4,53).

Código das bandejas amostradas	Consumo de carboidratos totais (média de 3 repetições) em % nos períodos (horas)				
	12	24	36	48	60
23A	2,41	4,07	9,90	11,02	10,90
23B	6,15	6,60	10,00	9,09	13,65
23C	1,03	0,69	5,49	6,76	6,58

Código das bandejas amostradas	Produção de nitrogênio (média de 3 repetições) em % nos períodos (horas)				
	12	24	36	48	60
23A	4,00	12,00	16,00	20,00	20,00
23B	8,00	12,00	16,00	24,00	24,00
23C	4,00	8,00	12,00	24,00	28,00

Apêndice 8 - Consumo de carboidratos totais (%) e produção de nitrogénio (%) ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h) referente ao tratamento 3 (temperatura de 32 °C, inóculo de 5% e pH = 4,53).

Código das bandejas amostradas	Consumo de carboidratos totais (média de 3 repetições) em % nos períodos (horas)				
	12	24	36	48	60
4A	3,74	3,26	6,01	9,25	5,06
4B	6,10	7,35	7,33	7,97	11,45
4C	5,50	10,97	10,69	9,36	8,23

Código das bandejas amostradas	Produção de nitrogénio (média de 3 repetições) em % nos períodos (horas)				
	12	24	36	48	60
4A	12,00	20,00	20,00	28,00	28,00
4B	12,50	20,83	29,17	33,33	33,33
4C	8,00	16,00	24,00	28,00	32,00

Apêndice 9 - Consumo de carboidratos totais (%) e produção de nitrogénio (%) ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h) referente ao tratamento 4 (temperatura de 32 °C, inóculo de 10% e pH = 4,53).

Código das bandejas amostradas	Consumo de carboidratos totais (média de 3 repetições) em % nos períodos (horas)				
	12	24	36	48	60
3A	1,24	4,66	5,15	6,91	19,57
3B	3,77	10,12	12,04	11,55	12,02
3C	1,54	8,50	8,60	7,84	11,06

Código das bandejas amostradas	Produção de nitrogénio (média de 3 repetições) em % nos períodos (horas)				
	12	24	36	48	60
3A	4,00	16,00	24,00	28,00	28,00
3B	12,50	16,67	29,17	37,50	37,50
3C	4,00	20,00	24,00	32,00	32,00

Apêndice 10 - Consumo de carboidratos totais (%) e produção de nitrogênio (%) ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h) referente ao tratamento 5 (temperatura ambiente, inóculo de 5% pH = 5,29).

Código das bandejas amostradas	Consumo de carboidratos totais (média de 3 repetições) em % nos períodos (horas)				
	12	24	36	48	60
21A	3,98	5,31	6,69	9,63	13,05
21B	4,21	5,03	5,51	11,78	16,64
21C	1,40	1,89	3,00	6,62	7,72

Código das bandejas amostradas	Produção de nitrogênio (média de 3 repetições) em % nos períodos (horas)				
	12	24	36	48	60
21A	0,47	4,00	16,00	20,00	20,00
21B	1,08	8,00	20,00	16,00	24,00
21C	2,08	8,00	20,00	20,00	20,00

Apêndice 11 - Consumo de carboidratos totais (%) e produção de nitrogênio (%) ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h) referente ao tratamento 6 (temperatura ambiente, inóculo de 10% e pH = 5,29).

Código das bandejas amostradas	Consumo de carboidratos totais (média de 3 repetições) em % nos períodos (horas)				
	12	24	36	48	60
22A	1,64	4,72	5,03	6,88	8,75
22B	3,41	3,45	6,57	6,57	12,58
22C	0,17	0,57	0,86	0,98	15,31

Código das bandejas amostradas	Produção de nitrogênio (média de 3 repetições) em % nos períodos (horas)				
	12	24	36	48	60
22A	2,49	7,81	6,31	25,73	25,45
22B	0,75	10,58	21,15	24,39	28,53
22C	4,26	1,07	16,14	23,09	25,89

Apêndice 12 - Consumo de carboidratos totais (%) e produção de nitrogênio (%) ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h) referente ao tratamento 7 (temperatura de 32 °C, inóculo de 5% e pH = 5,29).

Código das bandejas amostradas	Consumo de carboidratos totais (média de 3 repetições) em % nos períodos (horas)				
	12	24	36	48	60
1A	1,78	4,95	5,80	13,63	14,79
1B	8,10	9,08	9,22	10,20	14,64
1C	1,75	3,73	8,07	12,25	13,06

Código das bandejas amostradas	Produção de nitrogênio (média de 3 repetições) em % nos períodos (horas)				
	12	24	36	48	60
1A	3,70	11,11	11,11	11,11	14,81
1B	3,70	11,11	11,11	14,81	18,52
1C	3,70	14,81	11,11	14,81	18,52

Apêndice 13 - Consumo de carboidratos totais (%) e produção de nitrogênio (%) ao longo dos períodos (12, 24, 36, 48 e 60 h) referente ao tratamento 8 (temperatura de 32 °C, inóculo de 10% e pH = 5,29).

Código das bandejas amostradas	Consumo de carboidratos totais (média de 3 repetições) em % nos períodos (horas)				
	12	24	36	48	60
2A	6,39	6,75	12,62	11,17	12,15
2B	3,06	3,40	6,23	10,67	9,73
2C	4,21	6,37	8,87	11,23	11,17

Código das bandejas amostradas	Produção de nitrogênio (média de 3 repetições) em % nos períodos (horas)				
	12	24	36	48	60
2A	8,00	16,00	24,00	24,00	32,00
2B	4,00	12,00	12,00	28,00	32,00
2C	0,15	11,54	23,08	23,08	26,92