

Bioconversão da Palma Forrageira e do Sisal como Alternativa para Alimentação Animal

Antonio Daniel Buriti de Macedo* (Graduando em Química na Universidade Federal de Campina Grande – UFCG/CES);

Ana Paula Moisés de Sousa (Mestranda em Ciências Naturais e Biotecnologia na Universidade Federal de Campina Grande – UFCG/CES);

José Anderson Machado Oliveira (Mestrando em Ciências Naturais e Biotecnologia na Universidade Federal de Campina Grande – UFCG/CES);

Mônica Andrade de Mattos (Mestranda em Ciências Naturais e Biotecnologia na Universidade Federal de Campina Grande – UFCG/CES);

Renato Alexandre Costa de Santana (Prof. Adj. da UABQ e do PPGCNBiotec na Universidade Federal de Campina Grande);

Ana Regina Nascimento Campos (Profa. Adj. da UABQ e do PPGCNBiotec na Universidade Federal de Campina Grande).

*Email: Daniel_buritt@hotmail.com

RESUMO:

A palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) e o sisal (*Agave sisalana* Perrine) são recursos utilizados como alimento para ruminantes no período de escassez de pastagens, por serem plantas adaptadas às condições adversas do semiárido brasileiro. No entanto essas plantas apresentam baixo teor proteico e por isso recomenda-se fornecer na dieta animal sempre associada a um suplemento proteico, porém o uso de concentrados comerciais para suplementação proteica na dieta dos animais aumenta os custos de produção da atividade pecuária na região. Portanto, o estudo de alternativas para aumentar o valor proteico dessas plantas torna-se uma boa estratégia para tentar minimizar tais problemas. O objetivo deste trabalho foi estudar o processo de enriquecimento proteico da palma forrageira e do sisal através da fermentação semissólida, com a utilização da *Saccharomyces cerevisiae*, avaliando a influência da massa de sisal e concentração de suplemento mineral no teor proteico, visando à produção de um suplemento proteico para ser usado na ração animal. A fermentação ocorreu em sistema de batelada, durante 24 horas, onde o meio foi adicionado ao biorreator, ocorrendo então à adição da levedura e de suplemento mineral comercial, seguindo-se um planejamento experimental 3². Fez-se uma avaliação das variáveis estudadas e observou-se que, após 24 h de processo, o teor máximo de proteína bruta e de aumento proteico alcançados nas fermentações realizadas foi de 3% e 400%, respectivamente. As condições experimentais correspondentes a esses valores foram: concentração de suplemento mineral de 0,1% e massa de sisal de 100%. De acordo com o exposto verifica-se que o objetivo de enriquecer proteicamente forragens através da fermentação semissólida utilizando-se levedura foi alcançado.

Palavras-chave:

Suplemento mineral; Fermentação; Aumento Proteico.

1. INTRODUÇÃO

O desempenho da pecuária na região semiárida do Nordeste do Brasil tem sido limitado pela baixa disponibilidade de forragens, principalmente nos períodos de estiagem prolongada, além de manejo inadequado dos animais, da má utilização dos recursos forrageiros existentes na região e os altos custos das rações comerciais. Tais limitações têm levado os pecuaristas a buscarem alternativas para alimentação de fácil aquisição e de baixo custo. A palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) e o sisal (*Agave sisalana* Perrine) são uma alternativa viável encontrada pelos criadores como fonte de alimento básico para os seus rebanhos, pois podem ser utilizados em qualquer época do ano, inclusive nos períodos de estiagem (Araújo *et al.*, 2009).

A palma forrageira se apresenta como recurso alimentar de extrema importância. Adaptada às condições edafoclimáticas da região, tem sido frequentemente utilizada na alimentação animal, principalmente nos períodos de estiagem prolongada. Apresenta composição química variável de acordo com a espécie, idade, época do ano e tratos culturais. É um alimento rico em carboidratos, sobretudo carboidratos não fibrosos, apresenta altas produções de matéria seca por unidade de área, embora possua baixos teores de fibra em detergente neutro e proteína bruta. Apresenta ainda alto teor de cinzas e água, aspectos que devem ser levados em consideração quando for ser utilizada na alimentação de bovinos (Ferreira *et al.*, 2011).

O sisal é uma planta resistente à aridez e ao sol intenso do sertão nordestino. No Brasil os principais produtores são os estados da Bahia e da Paraíba. Resíduos do sisal (bagaço ou polpa) são bastante utilizadas na alimentação dos rebanhos durante os períodos de escassez de pastagens. No entanto, Silva & Beltrão (1999) salientam o seu baixo valor nutricional, pois apresenta um alto teor de lignina e baixo percentual de proteína bruta.

Diante da necessidade dos produtores em suplementar proteicamente a palma forrageira, o estudo do enriquecimento proteico dessas cactáceas de maneira que possa ser viável sua aplicação no campo, torna-se uma alternativa viável aos produtores. Dessa forma o produtor poderá enriquecer proteicamente a forragem de que dispõe em sua propriedade, diminuindo os custos com a suplementação proteica da alimentação dos animais, uma vez que não haveria despesas com aquisição, transporte e estocagem de concentrados proteicos comerciais.

O processo de enriquecimento proteico utilizando microrganismos pode ser realizado através de fermentação semissólida. A fermentação semissólida apresenta diversas vantagens quando comparada ao processo de fermentação submersa devido a seus aspectos físico-químicos, especialmente sua reduzida atividade de água, o que torna o processo mais produtivo, além de requerer baixo investimento de capital e energia e praticamente não produzir resíduos.

O objetivo deste trabalho foi estudar o processo de enriquecimento proteico da palma forrageira e do sisal através da fermentação semissólida, com a utilização da *Saccharomyces cerevisiae*, avaliando a influência da massa de sisal e concentração de suplemento mineral no teor proteico, utilizando um planejamento experimental completo associado à técnica de metodologia de superfície de resposta (MSR).

2. METODOLOGIA

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Bioquímica e Biotecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde (UFCG/CES).

As raquetes da palma forrageira e os caules do sisal utilizados nesse estudo foram coletados no sítio Bom Sucesso, município de Sossego, Curimataú Paraibano. As raquetes foram coletadas de acordo com a colheita feita tradicionalmente na região, ou seja, utilizando aquelas que apresentaram bom estado fitossanitário, a partir das raquetes terciárias. Do sisal foram retiradas as folhas e então feito o corte e coleta do caule da planta. Em seguida, o material foi levado ao laboratório onde foi triturado em liquidificador, resultando em uma massa com aspecto de mucilagem e de consistência pastosa, constituindo o substrato.

As fermentações foram realizadas em sistema de batelada, utilizando-se biorreatores retangulares de plástico, com dimensões de 15 x 25 cm. Os biorreatores foram dispostos em estufa de

circulação de ar forçado, na temperatura de 35 ± 1 °C, durante um período de 24 horas. Foram utilizados 500g de substrato em todas as fermentações realizadas, em combinações detalhadas a seguir.

Foi utilizada em todos os experimentos uma quantidade fixa de levedura *Saccharomyces cerevisiae*, prensada, fermento biológico comercial da marca Fleischmann. Esta quantidade correspondeu a 15g, que equivale a 3% da massa de substrato.

Ao substrato foram adicionadas o suplemento mineral na concentração correspondente a 0, 0,05 e 0,1%, em relação à massa inicial de substrato. As quantidades de massa de sisal adicionada ao substrato foram de 0, 50 e 100%, em relação à massa total do substrato. Antes e após 24 h, foram coletadas amostras para determinação do teor de água, pH e proteína bruta (base úmida), e calculado o correspondente aumento proteico.

2.1 Teor de água

O teor de água das amostras foi determinado após secagem em estufa Modelo BIOPAR, a 105° C, até peso constante, de acordo com metodologia descrita em IAL (2008).

2.2 pH

A determinação do pH foi realizada através de medidas potenciométricas do líquido sobrenadante, em peagâmetro da Marca Metrohm 744 pH METER, conforme metodologia descrita em IAL (2008).

2.3 Proteína bruta

O método Kjeldahl, (Tedesco *et al.*, 1995) foi utilizado para determinação de proteína bruta (PB). A determinação de proteína por esse método compreende por três etapas: digestão, destilação e titulação.

2.4 Determinação de Minerais

Os minerais foram quantificados por Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva; o equipamento utilizado foi o Shimadzu EDX-720.

2.5 Aumento Proteico

A determinação do aumento proteico nas amostras teve como base o valor proteico contido no substrato *in natura*. O aumento proteico (AP) foi definido como a razão entre a diferença do valor proteico do substrato enriquecido e o valor proteico do substrato na forma *in natura*, e o valor inicial de proteína bruta na forma *in natura*, conforme Equação 1.

$$AP(\%) = \frac{(\%) \text{ Proteína Bruta}_{(\text{enriquecido})} - (\%) \text{ Proteína Bruta}_{(\text{in natura})}}{(\%) \text{ Proteína Bruta}_{(\text{in natura})}} \times 100 \quad (1)$$

2.6 Planejamento experimental

Com a finalidade de avaliar quantitativamente a influência das variáveis independentes: concentração inicial de suplemento mineral e massa de sisal, sobre o aumento proteico, bem como suas possíveis interações com a realização mínima de experimentos, foi realizado um planejamento fatorial 3^2 mais um experimentos no ponto central, totalizando dez experimentos. Os experimentos foram realizados em ordem aleatória, para evitar o erro sistemático, variando-se simultaneamente a concentração inicial de suplemento mineral e massa de sisal.

A matriz do planejamento fatorial 3^2 encontra-se, na Tabela 1 e a Tabela 2 mostra as variáveis utilizadas nesse planejamento, suas codificações e os níveis reais para cada variável. Cada variável independente foi investigada para um nível alto (+1), um intermediário (0) e um baixo (-1).

Tabela 1. Matriz do planejamento fatorial 3²

Exp.	Conc. Suplemento mineral	Massa de sisal
	(%)	(%)
1	-1	-1
2	-1	0
3	-1	+1
4	0	-1
5	0	0
6	0	+1
7	+1	-1
8	+1	0
9	+1	+1
10	0	0

Tabela 2. Valores reais e codificados das variáveis do planejamento fatorial 3²

Variável	Nível		
	- 1	0	+ 1
Conc. inicial Suplemento mineral (%)	0	0,05	0,1
Massa de sisal (%)	0	50	100

O *software* STATISTICA 8.0 foi utilizado para geração e avaliação do planejamento experimental fatorial e análise da regressão dos dados experimentais. Para a otimização dos resultados, os efeitos das variáveis independentes sobre a resposta medida foi modelado usando o seguinte modelo matemático (Equação 2), que envolve as variáveis independentes e suas interações para a resposta medida, gerada pelo planejamento fatorial 3²:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{12}X_1X_2 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 \quad (2)$$

Onde Y é a variável independente (resposta), enquanto b₀ é a interseção, b₁, b₂, b₁₂, b₁₁ e b₂₂ são coeficientes de regressão; X₁ e X₂ são as variáveis independentes; X₁X₂ é a interação entre as variáveis; X₁² e X₂² são os termos quadráticos (MALAKAR *et al.*, 2012). A análise de variância (ANOVA) foi aplicada para estimar a significância do modelo (p < 0,05) e os parâmetros de resposta individual.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização química da levedura e dos substratos antes da fermentação

A levedura (*Sacharomyces cerevisiae*) utilizada apresentou de teor de água de 70% (base úmida) e proteína bruta 45% (base seca).

A Tabela 3 apresenta os valores dos teores de água, pH e de proteína bruta apresentados pelo substrato, palma forrageira, antes da fermentação. E a Tabela 4 apresenta o percentual dos constituintes minerais do substrato.

Tabela 3. Valores dos teores de água e proteína bruta do substrato antes do processo fermentativo

Palma forrageira	
Teor de água (%)	75,78
pH	4,76
Proteína bruta (base úmida) (%)	2,01

O teor de água apresentado pela palma forrageira está abaixo dos valores observados por Araújo (2004) e Cavalcante & Cândido (2002), quando analisaram os cladódios da palma forrageira *in natura*, e encontraram 90,7 e 91,59% de umidade (b.u.), respectivamente. Tal fato pode ser justificado pela época de coleta da palma utilizada neste estudo, que correspondeu ao mês de baixa pluviosidade na região, dezembro.

Com relação ao teor de proteína bruta da palma forrageira, Araújo (2004), Barbosa (1998), Cavalcante & Cândido (2003) e Teixeira *et al.* (1999), encontraram respectivamente valores de 7,93, 5,7, 6,23 e 11,4% de proteína bruta, quando expresso na base seca. Gomes (1977) e Perazzo Neto (1999) encontraram valores de 0,55 e 0,45% de proteína bruta, expresso em base úmida. Os resultados encontrados nesse trabalho para proteína bruta (b.u.) estão superiores aos encontrados na literatura.

Tabela 4. Constituintes minerais da palma forrageira antes do processo fermentativo

Minerais	Palma (<i>in natura</i>) %
Ca	6,89
K	5,43
Fe	0,66
Mg	0,46
P	0,11
Sr	0,10
S	0,09
Mn	0,08
Zn	0,05
Si	0,04
Cu	0,02
Rb	0,02

Segundo Santos *et al.* (1997) a palma forrageira apresenta altos teores de cinzas na matéria seca, com destaque para o Ca (2,25-2,88%); K (1,5 - 2,45%); e P (0,10-0,14%). Segundo Wanderley *et al.* (2002) o NRC recomenda, para os níveis de exigência de vacas em lactação, com base na matéria seca, teores de fósforo, potássio e magnésio nas rações de 0,28 a 0,42%; 0,9 a 1,0%; 0,20 a 0,25%, respectivamente. Quando comparado a estes valores, observa-se que os teores de K e de Mg , são superiores ao valor máximo exigido.

Barbosa, Vale & Detoni (2014), citaram porcentagens de K de 7,4 a 7,5%, para os cladódios de *Brasiliopuntia brasiliensis* A. Berger, ressaltando, porém que esses valores eram considerados mais elevados que os citados normalmente na literatura para cactáceas, que variam de 0,5 a 6%.

3.1 Planejamento experimental

Na Tabela 5 é apresentada a matriz do planejamento fatorial utilizado no estudo do enriquecimento proteico, os resultados de aumento proteico e correspondente valor de percentual de proteína bruta, alcançados durante 24 h de fermentação.

Tabela 5. Resultados de aumento proteico e proteína bruta após o processo da fermentação semissólida.

Exp.	Conc. Suplemento mineral	Massa de sisal	Aumento Proteico (%)	Proteína Bruta (%)
1	-1	-1	69	3,4
2	-1	0	108	2,7
3	-1	+1	267	2,2
4	0	-1	74	3,5
5	0	0	123	2,9
6	0	+1	200	1,8
7	+1	-1	99	4,0
8	+1	0	138	3,1
9	+1	+1	400	3,0
10	0	0	100	2,6

Considerando que um valor de probabilidade de 95% ($P < 0,05$) de confiança é satisfatório, foi possível estabelecer um modelo de segunda ordem (Equação 3), onde C_{SM} é a concentração de suplemento mineral e M_S é a massa de sisal, mostrando como resposta uma função “AP”, cujos valores dos coeficientes foram obtidos pelo programa STATISTICA 8.0. Na equação do modelo empírico o coeficiente que teve efeito significativo na resposta, ao nível de 95% de confiança, é mostrado em negrito.

$$AP = 94,28 + 32,167 C_{SM} + 45,93 C_{SM}^2 + \mathbf{104,17 M_S} + 59,93 M_S^2 + 25,75 C_{SM} \cdot M_S \quad (3)$$

O coeficiente de regressão (R^2) obtido foi igual a 0,915. Isto significa que este modelo de regressão prevê uma boa explicação da relação entre as variáveis independentes (C_{SM} , M_S) e a respostas (AP), ou seja, o modelo proposto consegue explicar com cerca de 91%, a variância da resposta. Segundo Barros Neto *et al.*(1999) os valores de R^2 devem ser próximos da unidade, o que nos mostra que os resultados foram satisfatórios.

A avaliação estatística do modelo foi determinada pelo teste de Fisher para análise de variância que são mostrados na Tabela 6. Os resultados da ANOVA listados demonstram que o modelo estatístico é significativo e preditivo para a variável de interação M_S (L), considerando $p < 0,05$.

Tabela 6. Resultados da ANOVA para o Aumento Proteico (AP).

Fator	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Média Quadrática	F	P
C_{SM} (L)	6208,17	1	6208,17	2,98937	0,158872
C_{SM} (Q)	4922,01	1	4922,01	2,37006	0,198520
M_S (L)	65104,17	1	65104,17	31,34911	0,004995
M_S (Q)	8380,01	1	8380,01	4,03516	0,114960
Interação C_{SM} (L) e M_S (L)	2652,25	1	2652,25	1,27712	0,321610
Erro	8306,99	4	2076,75		
Total SS	98155,60	9			

A Figura 1 mostra a superfície de resposta (obtida pela técnica MSR), da influência da concentração de suplemento mineral e da massa de sisal, sobre a resposta aumento proteico.

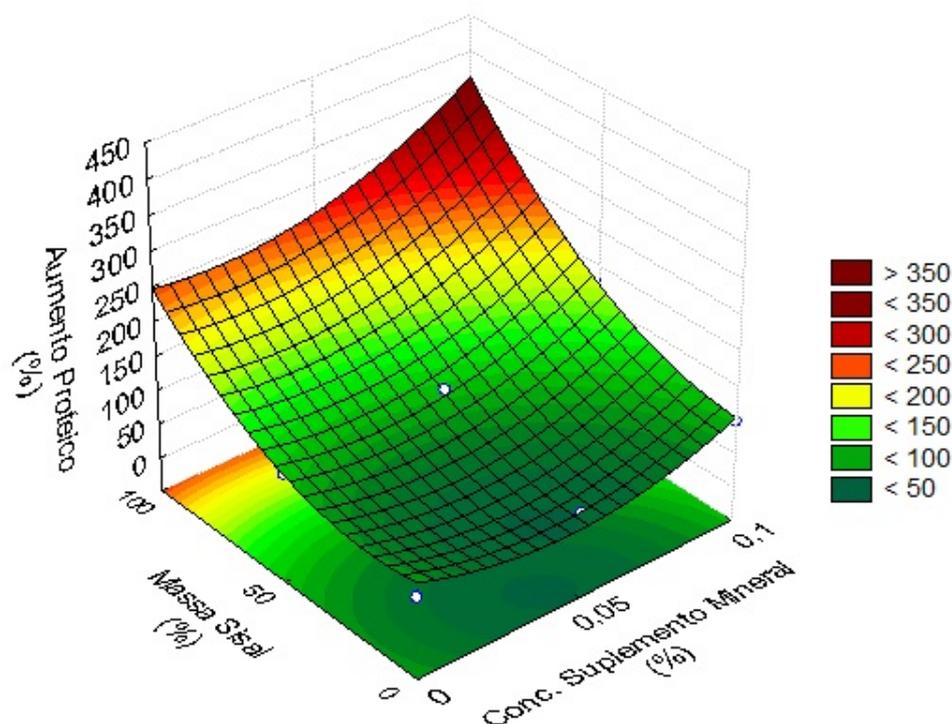


Figura 1. Superfície de resposta do efeito da concentração de suplemento mineral *versus* massa de sisal tendo como resposta o aumento proteico.

Os maiores valores de aumento proteico foram encontrados com maiores valores de concentração de suplemento mineral e também maiores valores de massa de sisal. O efeito da concentração de suplemento mineral foi estudado na faixa de 0 a 0,1% em relação a massa de substrato fermentado. Analisando o percentual de aumento proteico encontrado, podemos observar que a concentração de suplemento mineral não teve tanta influência se comparada à massa de sisal. Relacionando os valores encontrados na Tabela 5, verifica-se que o experimento 9 obteve um aumento proteico de 400%, o que corresponde a um percentual máximo de proteína bruta de 3,0%.

4. CONCLUSÃO

A fermentação semissólida a 35 °C com concentrações de 100% de sisal e 0,1 % de suplemento mineral proporcionou maior aumento proteico. Após 24 horas de fermentação, o teor máximo de proteína bruta e de aumento proteico alcançados nas fermentações realizadas foi de 3% e 400%, respectivamente.

Das duas variáveis estudadas, apenas a massa de sisal apresentou influências significativas no processo fermentativo. O suplemento proteico obtido através da fermentação da palma forrageira e do sisal, utilizando levedura *Saccharomyces cerevisiae* como inóculo, pode ser utilizado como uma alternativa na alimentação de ruminantes.

Bioconversion of forage and Sisal Palma with Alternative for Food animal

Abstract:

The cactus pear (*Opuntia ficus indica* Mill) and sisal (*Agave sisalana* Perrine) resources are used as feed for ruminants in shortage of grazing period because they are plants adapted to the harsh conditions of the Brazilian semiarid region. Yet these plants have low protein content and therefore it is recommended to day provide the animal's diet always associated with a protein supplement, but the use of commercial

concentrates for protein supplementation in animal diet increases the activity of livestock production costs in the region. Therefore, the study of alternatives to increase protein value of these plants makes it a good strategy to try to minimize these problems. The objective of this work was to study the protein enrichment process of the cactus pear and sisal by semisolid fermentation, with the use of *Saccharomyces cerevisiae*, evaluating the influence of the initial sisal concentration and mineral supplement concentration in protein content, aimed at producing of a protein supplement for use in animal feed. Fermentation occurred in the batch system during 24 hours, where the medium was added to the bioreactor, then going to the addition of yeast and commercial mineral, following an experimental design. There was an evaluation of the variables studied and it was observed that after 24 hours of the process, the maximum level of crude protein and.

Keywords:

Mineral supplement; fermentation; Increase Protein.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, P.R.B.; FERREIRA, M.A.; BRASIL, L.H.A.; SANTOS, D.C.; LIMA, R.M.B.; VÉRAS, A.S.C.; SANTOS, M.V.F.; BISPO, S.V.; AZEVEDO, M. Substituição do milho por palma forrageira em dietas completas para vacas em lactação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.33, n.6, p.1850-1857, 2004.

ARAÚJO, L. F. et al. Enriquecimento proteico da palma forrageira com *Saccharomyces cerevisiae* para alimentação de ruminantes. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* V.60, n.2, p. 401- 407, 2008.

ARAÚJO, L. F. .; SILVA, F. . L. H. .; OLIVEIRA, L. S. C. .; MEDEIROS, A. N. .; NETO, A. P. . Bioconversão do mandacaru sem espinhos (*Cereus jamacaru*) em alimento alternativo para ruminantes. **Tecnol. & Ciên. Agropec.**, v. 3, n. 1, p. 53–57, 2009.

BARBOSA, M. C. F.; VALE, R. C. & DETONI, C. E. Estudo exploratório da composição química dos cladódios da cactácea *Brasiliopuntia brasiliensis* A. Berger. **Cadernos de Geociências**, v. 11, n. 1/2, p. 114-120, 2014. Disponível em: < www.cadernosdegeociencias.igeo.ufba.br>. Acesso em: 15 jan. 2015.

CAVALCANTE, A.C.R.; CÂNDIDO, M.J.D. Alternativas para aumentar a disponibilidade de alimentos nos sistemas de produção a pasto na região Nordeste. *Embrapa Caprinos*, 31p. (Documentos 47), 2003.

FERREIRA, M. A. .; PESSOA, R. A. S. .; BISPO, S. V. . Otimização de dietas a base de palma forrageira e outras alternativas de suplementação para regiões semi-áridas. In: VII Simpósio de produção de gado de corte, 2011, **Anais...** , 2011. p. 241–266.

GOMES, P. Forragens fartas na seca. São Paulo, Nobel, 233p.,1977.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. Coordenadores: Odair Zenebon; Neus Sadoco Pascuet & Pablo Tigea. São Paulo, Ed. 4, 1ª Edição Digital, 2008.

MALAKAR, J.; SEN, S. O.; NAYAK, A. K.; SEN, K. K. Formulation, optimization and evaluation of transferosomal gel for transdermal insulin delivery. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 20, n. 4, p. 355–363, 2012.

PERAZZO NETO, A. Determinação de parâmetros para o enriquecimento protéico da palma (*Opuntia ficus-indica*) e vagens de algarroba (*Prosopis juliflora*) com *Aspergillus niger*. Tese Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999.

SANTOS, D.C.; FARIAS, I.; LIRA, M.A. Palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill e *Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck) em Pernambuco; cultivo e utilização. Recife: IPA, 23p. (Documentos, 25), 1997.

SILVA, O. R. R. da & BELTRÃO, N. E. de M. O agronegócio do sisal no Brasil. Brasília: Embrapa – SPI, Campina Grande - CNPA, 1999, 205p.

TEDESCO, J. M. et al. Análise de solo, plantas e outros materiais, Porto Alegre, 1995.

TEIXEIRA, J.C.; EVANGELISTA, A.R.; PERZ, J.R.; TRINDADE, I.A.C.M.; MORON, I.R. Cinética da digestão ruminal da palma forrageira. Ciência e Agrotecnologia, v.23, n.1, p.179-183, 1999.

WANDERLEY, W. L.; FERREIRA, M. de A.; ANDRADE, D.K.B. de.; VÉRAS, A.S.C.; FARIAS, I.; LIMA, L.E. de.; DIAS, A.M. de. A. Palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) em substituição à silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) na alimentação de vacas leiteiras. Revista Brasileira de Zootecnia v. 31, n. 1, 2002.