

BIOCONVERSÃO DA PALMA FORRAGEIRA E DO SISAL COMO ALTERNATIVA PARA ALIMENTAÇÃO ANIMAL

Antonio Daniel Buriti de Macedo*, Ana Paula Moisés de Sousa, José Anderson Machado Oliveira, Mônica Andrade de Mattos, Renato Alexandre Costa de Santana, Ana Regina Nascimento Campos.

Universidade Federal de Campina Grande – UFCG/ Centro de Educação e Saúde – CES/ Unidade Acadêmica de Biologia e Química – UABQ. Cuité - PB, 58.175-000.

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 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 concentração de suplemento mineral e da massa de sisal no teor proteico, visando à produção de um suplemento proteico para ser usado na ração animal. A fermentação ocorreu em sistema de batelada, durante 24h, 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 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:

*E-mail: daniel_buritt@hotmail.com

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 Semissólida; Aumento Proteico.

BIOCONVERSION OF FORAGE AND SISAL PALMA AS AN ALTERNATIVE FOR ANIMAL FOOD

ABSTRACT

The cactus pear (*Opuntia ficus indica* Mill) and sisal (*Agave sisalana* Perrine) are resources used as feed for ruminants during shortage, because they are plants adapted to the harsh conditions in the Brazilian semiarid region. However, those plants have low protein content, and, because of that, it is always recommended to provide protein supplement associated to the animal's diet, but the commercial concentrates usage for protein supplementation increases the activity of livestock production costs in the region. Therefore, the study of alternatives to increase protein value of those plants makes it a good strategy to try to minimize those problems. The objective of this paper 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 mineral supplement concentration and sisal mass in the protein content, aimed at producing a protein supplement to be used in animal feed. Fermentation was performed in a batch system during 24 h. The corresponding environment was added to the bioreactor, and then yeast and commercial mineral were added as well, following a 3² experimental design. The studied variables were evaluated, and it was observed that the highest level of crude protein and increasing protein were achieved in fermentations performed by 3% and 400%, respectively. The corresponding experimental conditions for those results were: 0.1 % for mineral supplement concentration mass and 100% for sisal. According to those conclusions, it appears that the aim of protein enrichment forage by semisolid fermentation using yeast has been achieved.

Keywords: Mineral supplement; Semisolid fermentation; Protein increase.

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 alternativas viáveis encontradas pelos criadores como fonte de alimento básico para os seus rebanhos, pois podem ser utilizadas em qualquer época do ano, inclusive nos períodos de estiagem.¹

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 carboidrato não fibroso, 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.²

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 utilizados na alimentação dos rebanhos durante os períodos de escassez de pastagens. No entanto, seu baixo valor nutricional é destacado, pois apresenta um alto teor de lignina e baixo percentual de proteína bruta.³

Diante da necessidade dos produtores em suplementar proteicamente a dieta dos animais, o estudo do enriquecimento proteico de forragens já utilizadas de maneira que possa ser viável sua aplicação no campo, torna-se uma alternativa 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.⁴

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).

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, todo 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 25cm. Os biorreatores foram dispostos em estufa de circulação de ar forçado, na temperatura de $35 \pm 1^\circ\text{C}$, durante um período de 24h. Foram utilizados 500g de substrato em todas as fermentações realizadas, em combinações detalhadas a seguir e, 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 24h, foram coletadas amostras para determinação do teor de água, pH e proteína bruta (base úmida), e calculado o correspondente aumento proteico.

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.⁵

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.⁵

Proteína bruta

O método Kjeldahl⁶ foi utilizado para determinação de proteína bruta (PB). A determinação de proteína por esse método compreende por três etapas: digestão, destilação e titulação.

Minerais

Os minerais foram identificados e quantificados por Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva (EDXRF), utilizando o equipamento Shimadzu EDX-720.

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.

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

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 3^2 .

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 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 b_0 é a interseção, b_1 , b_2 , b_{12} , b_{11} e b_{22} são coeficientes de regressão; X_1 e X_2 são as variáveis independentes; X_1X_2 é a interação entre as variáveis; X_1^2 e X_2^2 são os termos quadráticos.⁷ A análise de variância (ANOVA) foi aplicada para estimar a significância do modelo ($p < 0,05$) e os parâmetros de resposta individual.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização química da levedura e do substrato antes da fermentação

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

A Tabela 3 apresenta o valor do teor 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 deste substrato.

Tabela 3. Valor do teor de água, pH 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 *et al.*⁸ e Cavalcante & Cândido⁹, quando analisaram os cladódios da palma forrageira *in natura* e, encontraram 90,7 e 91,59% de umidade (base úmida), 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 *et al.*¹⁰, Barbosa *et al.*¹¹, Cavalcante & Cândido⁹ e Teixeira *et al.*¹², encontraram respectivamente valores de 7,93, 5,7, 6,23 e 11,4% de proteína bruta, quando expresso na base seca. Gomes¹³ e Perazzo Neto¹⁴ encontraram valores de 0,55 e 0,45% de proteína bruta, expresso em base úmida. Os resultados encontrados nesse trabalho para proteína bruta (base úmida) 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.*¹⁵, 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.*¹⁶, 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 *et al.*¹¹, 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%.

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 24h 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. Na equação do modelo empírico o coeficiente que teve efeito significativo na resposta, ao nível de 95% de confiança, é mostrado em negrito.

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

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. Valores de R^2 devem ser próximos da unidade, o que nos mostra que os resultados foram satisfatórios.¹⁷

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
$C_{SM}(L) \cdot M_S(L)$	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.

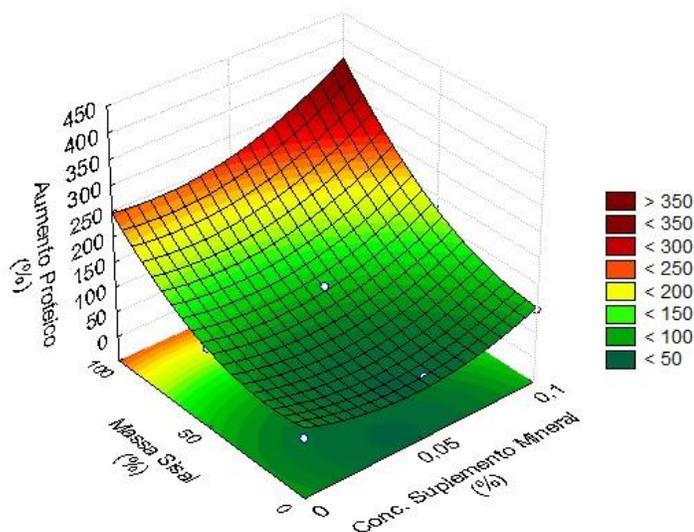


Figura 1. Superfície de resposta do efeito da concentração de suplemento mineral *versus* massa de sisal tendo como resposta o aumento proteico.

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%.

CONCLUSÕES

A fermentação semissólida a 35°C com concentrações de 100% de sisal e 0,1 % de suplemento mineral proporcionou maior aumento proteico. Após 24h 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.

REFERÊNCIAS

- [1] ARAÚJO, L.F.; SILVA, F.L.H.; OLIVEIRA, L.S.C.; MEDEIROS, A.N.; NETO, A.P. Rev. Tecnol. Ciên. Agropec. **2009**, 3(1), 53–57.
- [2] FERREIRA, M. A.; PESSOA, R. A. S.; BISPO, S. V. Anais VII Simpósio de produção de gado de corte, Viçosa, **2011**.
- [3] SILVA, O. R. R.; BELTRÃO, N. E. M. O agronegócio do sisal no Brasil, Embrapa – SPI: Brasília, **1999**.
- [4] CAMPOS, A.R.N.; SANTANA, R.A.C.; DANTAS, J.P.; OLIVEIRA, L.S.C.; SILVA, F.L.H. Rev. Ciên. Biol. Terra, **2005**, 5 (2).
- [5] IAL-INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz. 4.ed. São Paulo-SP, **2008**.
- [6] TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. Análises de solo, plantas e outros materiais. 2.ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, **1995**.
- [7] MALAKAR, J.; SEN, S.O.; NAYAK, A.K.; SEN, K.K. Saudi Pharm. J. **2012**, 20(4), 355–363.
- [8] 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. R. Bras. Zootec, **2004**, 33 (6), 1850-1857.

- [9] 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, **2003**, (Documentos 47).
- [10] ARAÚJO, L.F.; SILVA, F.L.H.; BRITO, E.A.; OLIVEIRA JÚNIOR, S.; Santos, E.S. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec, **2008**, 60(2), 401- 407.
- [11] BARBOSA, M. C. F.; VALE, R. C. & DETONI, C. E. Cadernos de Geociências, **2014**, 11, (1/2), 114-120.
- [12] TEIXEIRA, J.C.; EVANGELISTA, A.R.; PERZ, J.R.; TRINDADE, I.A.C.M.; MORON, I.R. Ciênc. agrotec. **1999**, 23 (1), 179-183.
- [13] GOMES, P. Forragens fartas na seca. Nobel: São Paulo, **1977**.
- [14] PERAZZO NETO, A. Tese Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, **1999**.
- [15] 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**.
- [16] WANDERLEY, W. L.; FERREIRA, M. A.; ANDRADE, D.K.B.; VÉRAS, A.S.C.; FARIAS, I.; LIMA, L.E.; DIAS, A.M.A. R. Bras. Zootec, **2002**, 31 (1).
- [17] BARROS NETO BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. Planejamento e otimização de experimentos, Editora da UNICAMP, **1995**.