

ENRIQUECIMENTO PROTEICO DA PALMA FORRAGEIRA (*Opuntia ficus-indica* Mill) EM BIORREATOR TAMBOR ROTATIVO

Renato Alexandre Costa de Santana¹, Ana Regina Nascimento Campos²

¹ Universidade Federal do Ceará/Centro de Ciências, Departamento de Química Analítica e Físico-química. Campus de Pici, Bloco 940, Fortaleza, CE, 60455-970. renato_acs@yahoo.com

² Universidade Federal de Campina Grande/Centro de Educação e Saúde, Unidade Acadêmica de Educação, Olho D'água da Bica, s/n, Cuité, PB, 58175-000. arncampos@ufcg.edu.br

Resumo- O enriquecimento proteico da palma forrageira, foi realizado empregando-se a fermentação semi-sólida em biorreator tambor rotativo, e fazendo-se a adição de diferentes concentrações iniciais de levedura e de ureia ao substrato. As concentrações de levedura adicionadas corresponderam 1, 3 e 5%, e as concentrações de ureia utilizadas foram 0, 5 e 10%, em relação à massa inicial de substrato. Fez-se uma avaliação das variáveis estudadas e observou-se que, após 4 h de processo, o teor máximo de proteína bruta e de aumento proteico alcançados nas fermentações realizadas foi de 43,27% e 6,44 vezes, respectivamente. As condições experimentais correspondentes a esses valores foram: concentração de levedura 3% e concentração de fonte de nitrogênio de 5%. A palma enriquecida poderá ser utilizada como suplemento proteico para alimentação animal, pois obedece às normas estabelecidas pela NRC e podem substituir parcialmente as rações convencionais formando-se uma alternativa de barateamento dos custos dos produtores.

Palavras-chave: Aumento proteico, Levedura, Fermentação Semi-Sólida; Biorreator

Área do Conhecimento: Ciências Exatas e da Terra

Introdução

As condições da região semi-árida do Nordeste brasileiro têm levado os criadores a utilizarem a palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) como alimento básico para os seus rebanhos, uma vez que a sua utilização é possível durante todo o ano, principalmente na ocorrência de estiagens prolongadas. A palma possui grande quantidade de água, é rica em resíduos minerais como cálcio, magnésio e potássio e vitaminas A, C e do complexo B (Batista Filho, 2010). Apresenta elevado teor de carboidratos solúveis, além de um alto coeficiente de digestibilidade da matéria seca (Teixeira et al., 1999). No entanto, a palma apresenta baixo teor proteico quando comparado a outras forragens utilizadas, o que traz consequências desfavoráveis ao rebanho, quando se faz uso exclusivo dessa forrageira (Santos et al., 1997).

O processo de enriquecimento proteico utilizando microrganismos pode ser realizado através de fermentação semi-sólida. Segundo Viniegra-González (1998), a fermentação semi-sólida 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. Correia (2004) afirma que o processo da fermentação semi-sólida pode ser realizado com equipamentos de controle relativamente simples e manuseio pouco sofisticado.

Diante da grande necessidade dos produtores em suplementar proteicamente a palma forrageira, o estudo da ampliação de escala desse processo 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 objetivo deste trabalho foi estudar o processo de enriquecimento proteico da palma forrageira em biorreator tambor rotativo, através da fermentação semi-sólida, com a utilização da *Saccharomyces cerevisiae*, avaliando a influência da concentração inicial de levedura e concentração de fonte de nitrogênio no teor proteico, utilizando planejamento fatorial.

Metodologia

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Unidade Acadêmica de Engenharia Química (UAEQ) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). A palma forrageira, utilizada como substrato, foi coletada na propriedade Olho D'água, no município de Sérido, no cariri Paraibano. As raquetes da palma foram coletadas com cortes efetuados nas articulações, utilizando aquelas que não apresentaram pragas ou doenças, a partir das terciárias, conforme colheita feita tradicionalmente na região. Em seguida esse material foi processado, resultando numa mucilagem com consistência pastosa.

Para o estudo do enriquecimento proteico da palma forrageira foi utilizada a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, prensada, fermento biológico comercial da marca Fleischmann, com umidade de 70% (base úmida) e proteína bruta 45% (base seca) e como fonte de nitrogênio foi utilizado a ureia comercial. Foram adicionadas diferentes concentrações iniciais de levedura ao substrato, que compreenderam 1, 3 e 5% em base úmida, em relação à massa inicial de substrato. As quantidades de ureia adicionada ao substrato foram de 0, 5 e 10%, em relação à massa inicial de substrato.

Antes e após a adição da levedura e da ureia ao substrato como também após 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 24 h de fermentação, foram retiradas amostras para a determinação de proteína bruta e aumento proteico. Para a determinação da proteína bruta na matéria seca foi usado o método Kjeldahl, descrito por Silva (1998).

As determinações do aumento proteico das amostras tiveram como base o valor proteico contido na massa seca da palma *in natura*. O aumento proteico (AP) foi definido como a razão entre o valor proteico da palma enriquecida, em base seca e o valor inicial de proteína bruta na forma *in natura*, em base seca, conforme Equação 1.

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

Na amostra que apresentou o maior aumento proteico, tempo ótimo de fermentação, foram realizadas análises de determinação de umidade, matéria orgânica, energia bruta e teor de P, K, Ca e Mg.

As determinações de umidade, matéria orgânica e energia bruta foram realizadas conforme recomendações da AOAC (1990). O teor de P, K, Ca, e Mg foram determinados conforme metodologia descrita por Silva (1998).

As fermentações foram realizadas em biorreator tambor rotativo de plástico, com capacidade de 10kg de substrato por batelada. Foram fixadas chicanas feitas de chapas de aço inoxidável dentro do tambor para promover a homogeneização, ajudando na aeração do substrato. O tambor rotativo possuía agitação constante de aproximadamente 20rpm. As fermentações ocorreram à temperatura ambiente ($25 \pm 3^\circ\text{C}$), durante um período de 24 h.

Com a finalidade de avaliar quantitativamente a influência das variáveis independentes, concentração inicial de levedura e concentração de fonte de nitrogênio, sobre o teor de proteína bruta e aumento proteico, foi realizado um planejamento fatorial 2^2 + dois experimentos no ponto central, totalizando seis experimentos. A matriz do planejamento fatorial 2^2 encontra-se, na Tabela 1 e a Tabela 2 mostra as variáveis utilizadas no planejamento fatorial, suas codificações e os níveis reais para cada variável.

Tabela 1 - Matriz do planejamento fatorial 2^2

Exp.	Conc. Levedura (%)	Conc. Fonte Nitrogênio (%)
1	+1	-1
2	+1	+1
3	-1	+1
4	-1	-1
5	0	0
6	0	0

Tabela 2 - Valores reais e codificados das variáveis do planejamento fatorial 2^2

Variável	Nível		
	- 1	0	+ 1
Conc. inicial levedura (%)	1	3	5
Conc. de fonte de nitrogênio (%)	0	5	10

Resultados

As Tabelas 3 e 4 apresentam, respectivamente, os valores do percentual de proteína bruta (PB), expressos na base seca e o correspondente aumento proteico (AP) da palma forrageira em diferentes tempos de fermentação semi-sólida, nos seis experimentos realizados.

Tabela 3 - Variação da proteína bruta da palma forrageira durante o processo da fermentação semi-sólida

Tempo (h)	Proteína Bruta (%)					
	Exp 1	Exp 2	Exp 3	Exp 4	Exp 5	Exp6
<i>In natura</i>	7,2	6,6	6,92	7,0	6,9	6,5
0	25,6	25,6	39,08	12,9	15,1	11,1
2	30,9	19,0	28,93	11,0	12,4	11,4
4	8,5	36,2	36,22	12,5	45,4	41,1
6	7,2	46,7	34,66	9,9	13,8	10,7
8	25,6	37,5	45,34	32,2	13,8	11,0
10	37,5	21,7	30,87	8,0	33,5	30,1
12	8,5	20,4	35,7	14,1	32,2	30,6
24	32,2	37,5	39,49	9,8	37,1	32,2

Tabela 4 - Aumento proteico da palma forrageira durante o processo da fermentação semi-sólida

Tempo (h)	Aumento Proteico					
	Exp 1	Exp 2	Exp 3	Exp 4	Exp 5	Exp 6
0	3,6	3,9	5,6	1,8	2,2	1,7
2	4,3	2,9	4,2	1,6	1,8	1,7
4	1,2	5,5	5,2	1,8	6,6	6,3
6	1,0	7,1	5,0	1,5	2,0	1,6
8	3,6	5,7	6,5	4,6	2,0	1,7
10	5,2	3,3	4,5	1,2	4,9	4,6
12	1,2	3,1	5,1	2,0	4,9	4,7
24	4,5	5,6	5,7	1,4	5,4	4,9

As Tabelas 5 e 6 apresentam os modelos de ajuste com curvatura com os correspondentes coeficientes de determinação, bem como a razão $F_{calculado}/F_{tabelado}$, para cada tempo estudado para as respostas Proteína Bruta e Aumento Proteico, respectivamente. Os coeficientes do modelo que tiveram efeitos significativos na resposta, ao nível de 90% de confiança são destacados em negrito.

A Tabela 7 apresenta os resultados da composição química da palma forrageira *in natura*, logo após a adição da levedura e da uréia (tempo 0) e no melhor tempo da fermentação, 4 horas.

Tabela 5 - Modelos com curvatura para proteína bruta, nos diferentes tempos de fermentação

Tem. (h)	Modelo empírico codificado	R ²	F _o /F _t
2	22,48 - 10,56 Curv + 2,50 C _L + 1,51 C _{FN} - 7,44 C _L .C _{FN}	99,86	3,29
4	23,34 + 19,93 Curv - 1,01 C _L + 12,86 C _{FN} + 0,99 C _L .C _{FN}	99,23	0,58
6	24,62 - 12,41 Curv + 2,33 C _L + 16,08 C _{FN} + 3,71 C _L .C _{FN}	99,64	1,23
8	35,18 - 22,78 Curv - 3,60 C _L + 6,24 C _{FN} - 0,31 C _L .C _{FN}	99,59	1,08
10	24,51 + 7,33 Curv + 5,09 C _L + 1,77 C _{FN} - 9,68 C _L .C _{FN}	98,96	0,43
12	19,66 + 11,74 Curv - 5,24 C _L + 8,38 C _{FN} - 2,44 C _L .C _{FN}	99,77	1,92
24	29,76 + 4,93 Curv + 5,11 C _L + 8,74 C _{FN} - 6,10 C _L .C _{FN}	97,99	0,22

C_L: Conc. de Levedura C_{FN}: Conc. Fonte de Nitrogênio
Curv: Curvatura

Tabela 6 - Modelos com curvatura para o aumento proteico, nos diferentes tempos de fermentação

Tem. (h)	Modelo empírico codificado	R ²	F _o /F _t
2	3,25 - 1,50 Curv. + 0,35 C _L + 0,30 C _{FN} - 1,00 C _L .C _{FN}	99,94	7,03
4	3,42 + 3,02 Curv. - 0,075 C _L + 1,92 C _{FN} + 0,22 C _L .C _{FN}	99,83	3,05
6	3,65 - 1,85 Curv. + 0,40 C _L + 2,40 C _{FN} + 0,65 C _L .C _{FN}	99,73	1,68
8	5,1 - 3,25 Curv. - 0,45 C _L + 1,00 C _{FN} + 0,05 C _L .C _{FN}	99,76	1,88
10	3,55 + 1,20 Curv. + 0,70 C _L + 0,35 C _{FN} - 1,30 C _L .C _{FN}	99,60	1,11
24	4,30 + 0,85 Curv. + 0,75 C _L + 1,35 C _{FN} - 0,80 C _L .C _{FN}	99,05	0,49

C_L: Conc. de Levedura C_{FN}: Conc. Fonte de Nitrogênio
Curv: Curvatura

Tabela 7 - Valores da composição química da palma forrageira *in natura* e enriquecida, com base no teor de matéria seca

	MS (%)	MO (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	EB M _{Ca} Kg ⁻¹
<i>In</i>	7,96	87,1	0,13	2,01	2,53	0,08	3,1
0h	18,9	86,8	0,18	2,40	2,58	0,1	3,8
4h	18,9	86,5	0,20	2,42	2,61	0,1	4,3

Discussão

Proteína Bruta/Aumento Proteico

Relacionando os valores encontrados nas Tabelas 3 e 4, verifica-se que o experimento 1 obteve um percentual máximo de proteína bruta de 37,51%, o que corresponde a um aumento proteico de 5,2 vezes, esse aumento foi conseguido após 10 h de fermentação. O aumento proteico alcançado no experimento 2, após 6 h de processo, foi de 7,1 vezes. O teor de proteína bruta da palma neste experimento aumentou de 6,65 para 46,75%. Experimento 3 o maior teor proteico encontrado foi de 45,34%, que correspondeu a um incremento de 6,5 vezes, para o tempo de 8 h. Após 8 h de fermentação o substrato do experimento 4 obteve um aumento de 4,6 vezes, aumentando a proteína bruta de 7,04 para 32,23%. Experimentos 5 e 6 alcançaram um aumento proteico de 6,6 e 6,3 vezes, respectivamente, obtendo-se valores de proteína bruta acima de 40%.

Almeida (2007) estudou a cinética do enriquecimento protéico do mandacaru através da fermentação semi-sólida com a levedura *saccharomyces cerevisiae*, no mesmo tambor rotativo utilizado neste estudo. Após 10 h de fermentação o mandacaru atingiu um teor proteico máximo de 23%, que correspondeu a aproximadamente o dobro do teor de proteína bruta do mandacaru *in natura*, sendo o aumento proteico de 1,72 vezes.

Planejamento fatorial

Na Tabela 5 constata-se que os modelos que descrevem a relação entre as variáveis independentes e a proteína bruta nos tempos de 2, 6, 8 e 12 h de fermentação apresentaram a razão F_{cal}/F_{tab} maior que 1 sendo, portanto estatisticamente significativos (Barros Neto *et al.*, 1995). Para a resposta aumento protéico foram estatisticamente significativos os modelos com curvatura para os tempos 2, 4, 6, 8 e 10 h de fermentação (Tabela 5).

Caracterização química da palma forrageira enriquecida proteicamente

O teor médio de matéria seca (MS) apresentado pela palma *in natura* foi de 7,49%. Comparando-se o teor de MS da amostra *in natura* com o valor obtido durante o processo, verifica-se um aumento de 7,96-18,99%, na amostra retirada após 4 h. Este fato também foi evidenciado por Araújo (2004) quando estudou o enriquecimento da palma por leveduras sem adição de ureia, que associou o fato observado à formação de CO₂

(evidenciando crescimento da levedura) e evaporação de H₂O havendo dessa forma concentração de massa no material fermentado em relação ao material na forma *in natura*.

Os valores de PB encontrados neste trabalho, depois do enriquecimento proteico estão de acordo com as especificações da norma de alimentação da National Research Council (NRC) (1989) que recomenda uma suplementação proteica contendo um teor de proteína bruta de 14 a 16% para vacas secas, 18% em rações iniciais para bezerros e de 20 a 24% ou mais dependendo da produção de vacas em lactação.

Comparando os percentuais de Proteína Bruta encontrados, neste trabalho, com os teores proteicos recomendados pelo NRC, observa-se que a palma forrageira enriquecida proteicamente alcançou teores superiores aos dos concentrados de aveia esmagada (14,7%), farelo grosso de trigo (15,0%), torta de babaçu (20,5%), coco da Bahia prensado (21,2%), semente de algodão (23,1%), grãos de ervilha (23,4%), farelo de babaçu (24%) e farelo de aveia (25,8%).

Segundo Santos *et al.* (1997) a palma forrageira apresenta altos teores de cinzas na matéria seca, com destaque para o cálcio, 2,25-2,88%; potássio, 1,5 - 2,45%; e fósforo, 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 P e de Mg alcançados após fermentação, são um pouco inferiores ao valor mínimo exigido. E os teores de K e de Ca embora na forma *in natura* já fossem suficientes às necessidades do animal, após enriquecimento foram elevados.

A palma forrageira na forma *in natura* analisada apresentou teor de energia bruta igual 3,1 Mcal/Kg. Após enriquecimento nutricional a palma forrageira apresentou teores de energia bruta (EB) de 4,3 Mcal/Kg. Segundo Araújo (2004) essa cactácea apresenta altos teores de energia bruta. Isto significa que a mesma possui carboidratos, principalmente monossacarídeos na sua composição química que podem ser utilizados pelos microrganismos no processo de fermentação, além de serem considerados uma das principais fontes de calor e energia. Em seus estudos o autor encontrou uma pequena oscilação nos valores de EB da palma durante seu enriquecimento proteico, o que sugeriu uma instabilidade entre o consumo e a produção de carboidratos durante o processo, uma vez que o microrganismo utiliza os carboidratos para a síntese de proteína.

De acordo com o exposto acima verifica-se que o objetivo de enriquecer proteicamente a palma forrageira através da fermentação semi-sólida utilizando-se levedura e ureia em tambor rotativo, foi alcançado. A palma enriquecida poderá ser utilizada como suplemento nutricional (protéico, mineral e energético) para alimentação animal, pois obedecem às normas estabelecidas pela NRC (1989) e podem substituir parcialmente as rações convencionais formando-se uma alternativa de barateamento dos custos dos produtores.

Conclusão

O teor máximo de proteína bruta e de aumento proteico alcançados nas fermentações realizadas em biorreator tambor rotativo foi de 43,27% e 6,44 vezes, respectivamente. As condições experimentais correspondentes a esses valores foram: concentração de levedura 3% e concentração de fonte de nitrogênio de 5%.

O tempo de fermentação em que alcançou-se os maiores resultados de proteína bruta e de aumento protéico foi de 4 h para as fermentações realizadas em tambor rotativo.

A palma enriquecida poderá ser utilizada como suplemento nutricional (protéico, mineral e energético) para alimentação animal, pois obedece às normas estabelecidas pela NRC (1989) e podem substituir parcialmente as rações convencionais formando-se uma alternativa de barateamento dos custos dos produtores.

Referências

- ALMEIDA, M.M. Estudo da bioconversão do mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC.) para produção de bioprodutos. Tese Doutorado em Engenharia de Processos, Universidade de Campina Grande, Campina Grande, 2007.
- ARAÚJO, L.F. Enriquecimento protéico do mandacaru sem espinhos (*Cereus jamacaru* P.DC) e palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) por fermentação semi-sólida. Tese Doutorado em Engenharia de Processos, Universidade de Campina Grande, Campina Grande, 2004.
- AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. Official methods of analysis. Washington, Ed.12, 1990.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, J.S.; BRUNS, R.E. Planejamento e otimização de experimentos. Editora da UNICAMP, Campinas, 1995.
- BATISTA FILHO, M. Consumo de palma atenua carência de vitamina A. Disponível em: <<http://www.barney1.hpg.ig.com.br/palma.html>>. Acesso em 07 de Fevereiro de 2010.
- CORREIA, R.T.P. Estudo do cultivo semi-sólido de *Saccharomyces cerevisiae* e *Rhizopus Oligosporus* em residuo de abacaxi. Tese Doutorado em Engenharia Química. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2004.
- NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of beef cattle, 6.ed. Washington: National Academy of Science, (nutrient requirements of domestic animals), v.1, 157p. 1989.
- 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, J. D. Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos). Editora UFV. São Paulo, 1998.
- 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.
- VINIEGRA-GONZÁLEZ, G. Strategies for the selection of mold strains geared to produce enzymes on solid substrates, In: GALINDO, E.; RAMYREZ, O.T. (Eds.), Advances in Bioprocess Engineering II, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht , p. 123–136, 1998.
- 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.