Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal Brazilian Journal of Hygiene and Animal Sanity ISSN: 1981-2965



Produção microbiana de proteína a partir de resíduo de acerola (*Malpighia emarginata* d.c) destinado à alimentação animal

Microbial production of protein from reservoir of acerola (malpighia emarginata d.c) for animal feeding

Lúcia de Fátima Araújo¹, Emerson Moreira Aguiar¹, Robson Rogério Pessoa¹, Djalma Fernandes de Sousa Filho², Jocsã Magdiel Nogueira de Lima³, Luiz Eduardo Pereira Santiago⁴

Resumo: O trabalho teve como objetivo caracterizar a composição químicobromatologica do coproduto da acerola antes e após enriquecimento proteico com a levedura da espécie *Sacharomyces cerevisae* em fermentação semissólida para alimentação animal. Foram realizados quatro tratamentos sendo a testemunha contendo o coproduto na forma *in natura* e os demais contendo 2% de levedura para o tratamento II; 2% de levedura mais 1% de ureia formando o tratamento III e 2% de levedura mais 2% de ureia para o tratamento IV os quais ficaram 24 horas em temperatura ambiente por 24 horas submetidos neste período em fermentação semissólida. Obteve-se os seguintes resultados para proteína bruta: 9,85%; 17,91%; 43,11% e 59,06%, respectivamente. Concluiu-se que houve eficácia do processo uma vez que se obteve valores similares e maiores que o concentrado convencional da soja muito utilizado na dieta dos animais.

Palavras-chaves: coproduto, biotecnologia, alimentação animal, caracterização, nutrição.

Summary: The objective of this work was to characterize the chemical -bromatological composition of the acerola co - product before and after protein enrichment with the yeast of the species Sacharomyces cerevisae in semi - solid fermentation for animal feed. Four treatments were performed, the control containing the co-product in in natura form and the others containing 2% of yeast for treatment II; 2% of yeast plus 1% of urea forming treatment III and 2% of yeast plus 2% of urea for treatment IV which remained 24 hours at room temperature for 24 hours subjected in this period in semi-solid fermentation. The following results were obtained for crude protein: 9.85%; 17.91%; 43.11% and 59.06%, respectively. It was concluded that there was an efficacy of the process since similar and higher values were obtained than the conventional concentrate of the soybean used in the animals' diet.

Key-words: co-product, biotechnology, animal feed, characterization, nutrition

Autor para correspondência. E-mail: <u>luciazootec@yahoo.com.br</u> Recebido em 10.03.2021. Aceito em 30.06.2021

E-mail: <u>djalmaestervam@hotmail.com</u>

Introdução

Brasil produziu em 2010 mais de 42 milhões de toneladas de frutas, somando as produções das principais frutas, mantendo o Brasil entre os três maiores países produtor de frutas do mundo, sendo o primeiro na produção de frutas tropicais, desse total da produção 47 % são consumidas in natura e 53 % são processadas, cujo resíduo pode chegar a 50 % da biomassa original (BUENO BACCARIN, 2012).

A região Nordeste é uma das regiões mais produtoras e exportadoras de frutas do Brasil, contando com mais de 30 polos de desenvolvimento agrícola em áreas irrigadas, segundo NAUMOV (2009). Esse destaque está associado à prevalência do clima seco da região, que torna o ambiente menos

propício às doenças; irrigação localizada para superar as limitações climáticas e ao uso de tecnologias que permitem maiores níveis de produção. Como resultado desse potencial, tem-se surgimento de inúmeras agroindústrias de processamento de frutos relatado por vários autores, principalmente para agregar valor aos frutos tropicais oriundos da alta demanda produtiva (NOGUEIRA et al., 2010),

A acerola (*Malpighia glabra* D.C.) ou cereja tropical também conhecida como cereja das Antilhas ou cereja de barbados é uma fruta que vem se destacando mundialmente, devido ao alto teor de vitamina C e outros compostos bioativos, além de vitaminas do complexo B que é uma importante vitamina para o crescimento dos

¹ Professora Doutora em Engenharia de Processos da Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias- EAJ- UFRN -Campus de Macaíba – Macaíba-RN – Celular: (84) 99268056. orcid.org/0000-0001-6661-8426. E-mail: luciazootec@yahoo.com.br

¹ Professor Doutor em Forragicultura da Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias- EAJ- UFRN -Campus de Macaíba – Macaíba-RN – orcid.org/ 0000-0002-7088-5479-E-mail: emersnaguiar@ufrnet.br .

¹ Professor Doutor em Agronomia da Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias-EAJ- Campus de Macaíba – Macaíba -RN. orcid.gov/0000-0003-0078-3538. E-mail: duplor@gmail.com

² Mestrando do Curso de Pós-graduação-Mestrado em Produção Animal- UAECA-EAJ-UFRN – Campus de Macaíba- orcid.org/0000-0001-63764233-

³ Discente do Curso de Engenharia Agronômica – UAECA- EAJ- UFRN – Campus de Macaíba- Celular: (84) 9631-0662- E-mail: <u>jocsanogueira01@gmail.com</u>

⁴ Engenheiro Químico do Laboratório de Nutrição e Alimentação Anima- UAECA -EAJ- UFRN -Campus de Macaíba — Celular: (84) 9620-1468- orcid.gov/0000-0002-9259-455X. E-mail: eduardoengquímico@gmail.com

animais, assim como os minerais como ferro, cálcio, fósforo e sódio e possui expressivo teor de carboidratos (ALMEIDA et. al., 2014).

De acordo com Pinto et al., (2006) a fermentação semissólida vem sendo ampliada para se aproveitar as grandes quantidades de resíduos agrícolas desperdiçados no campo e provenientes da agroindústria propiciando, assim, o valor agregado substratos de baixo comercial. Ainda o mesmo autor afirma que fermentação semissólida apresenta as seguintes características: a fase sólida atua como fonte de carbono, nitrogênio e demais componentes, além de servir como suporte para o crescimento das células microbianas; o ar é necessário ao desenvolvimento microbiano, deve atravessar os espaços vazios do meio a relativamente pressões baixas. 0 crescimento microbiano ocorre em condições mais próximas aos dos habitats naturais; tratamento simples, maiores solubilidade e difusão de oxigênio e outros gases, menor custo do equipamento e resíduos sólidos mais estáveis após a fermentação.

De acordo com Duran (1989) apud Araújo (2004), a produção de grande quantidade de células ricas em proteínas, denominadas SCP ("Single Cell Protein"), realizada pelas bactérias,

fungos e algas empregada em processos tecnologicamente intensivos permitem alta produção volumétrica de proteínas.

A produção desse tipo de proteínas é independente de efeitos climáticos e alterações ambientais, portanto, o importante é a escolha de um micro-organismo e substrato adequados para realização do processo.

Uma das da vantagens fermentação semissólida utilizando micro-organismos é que os mesmos apresentam uma multiplicação celular de aproximadamente 500 vezes maior que a dos vegetais e 10.000 vezes maior que a do gado. Isto ocorre devido à grande área específica dos microorganismos que lhes proporcionam uma velocidade metabólica maior. Animais e vegetais necessitam de extensas áreas e de um ciclo longo para serem utilizados como alimento, enquanto que os micro-organismos podem produzir proteínas em poucas horas e em áreas restritas (PERAZZO, 1999).

Dentre os microrganismos utilizados para este tipo de fermentação, têm-se destacado a levedura da espécie Saccharomyces cerevisiae como excelente fonte proteica, por não apresentar características patogênicas, podendo ser utilizada tanto na alimentação humana como ração para os animais. Além de ocupar pequena área e reduzida quantidade de água para seu crescimento (PELIZER, 2000).

O objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização da composição químicobromatologica do coproduto da acerola antes e após enriquecimento proteico com a levedura da espécie Sacharomyces cerevisae em fermentação semissólida para alimentação animal.

Material e métodos

O experimento foi realizado na Unidade de Processamento e Beneficiamento de Frutas e Hortaliças da UECA-EAJ-UFRN do Campus de Macaíba-RN. O substrato (acerolas encontradas no solo) foi coletado no pomar da EAJ da mesma Unidade.

O micro-organismo utilizado foi a levedura da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, foi doada pela Unidade de Panificação da UECA-EAJ-UFRN também no Campus de Macaíba.

A ureia destaca-se como fonte de nitrogênio não-protéico, sendo bastante utilizada na alimentação de ruminantes, foi doada pelo estábulo da mesma unidade pertencente ao Campus de Macaíba-UFRN.

Foram utilizados quatro tratamentos experimentais em um delineamento inteiramente casualisado com três repetições. Os tratamentos experimentais utilizados consistiram do

refugos de acerola na forma *in natura*, o tratamento controle, e os demais foram utilizados a combinação da inoculação de

2% de levedura em diferentes níveis de ureia: 0,1 e 2%, conforme apresentado na Tabela 1.

Os biorreatores utilizados foram bandejas de alumínio medindo 25 cm de comprimento, 12 cm de largura e 6 cm de profundidade com capacidade para 1kg de substrato, utilizando-se apenas 800g deste que não deve utilizar capacidade do biorreator, pois a adição de levedura provoca uma elevação da massa do substrato devido a formação de CO₂ e H₂O, durante as primeiras horas de fermentação que perdura por um período de 24 horas, consequentemente, perderia massa de substrato influenciando o resultado final do processo (ARAÚJO et al. 2005).

Posteriormente, as amostras foram acondicionadas e armazenadas em potes descartáveis, devidamente identificados para realização da caracterização química bromatológica no Laboratório de Alimentação e Nutrição Animal da UECA-EAJ-UFRN no Campus de Macaíba-RN.

A caracterização química bromatológica foi realizada na base da matéria seca em forma de farelo enriquecido: Determinou-se a matéria seca em estufa com temperatura a 105°C, por um período de 4 horas até obter peso constante.

A determinação do teor de cinzas (MM) das amostras dos resíduos da acerola foi feita por incineração em forno mulfla a temperatura de 550°C, até a obtenção de cinzas claras, de acordo com procedimentos da AOAC (2005).

Obteve-se o teor de proteína bruta pela quantificação de nitrogênio total da amostra, utilizando-se o micro destilador Kjeldhal de acordo com o método descrito pela Association of Official Analytical Chemises (AOAC, 1990) Determinou-se o teor de fibra em detergente neutro (FDN) da seguinte forma: a amostra foi tratada com detergente neutro e amilase para a separação das fibras insolúveis no meio; Essas fibras constituem basicamente de celulose. hemicelulose. lignina proteína lignificada; A amilase foi utilizada para realizar a hidrólise do amido e impedir a sua gelatinizarão; Em seguida, o precipitado foi secado em estufa á 105⁰ C e pesado. Incinerou-se o peso final do resíduo em forno mufla em temperatura variando de 550⁰C a 600°C. Incinerou-se todo material fibroso, permanecendo apenas o resíduo mineral: Determinou-se a da fibra em detergente ácido (FDA), utilizando-se um detergente ácido específico, para solubilizar o conteúdo celular, e a hemicelulose, além da maior parte da proteína insolúvel; Obteve-se um resíduo insolúvel no detergente ácido, denominado fibra em de detergente ácido, constituído, em sua quase totalidade de lignina e celulose, de acordo com o método da AOAC (1990).

Os dados analisados segundo o delineamento inteiramente casualisado, com quatro tratamentos e três repetições, totalizando doze parcelas, sendo que cada parcela representada por um alimento.

As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o Programa Estatístico SISVAR (FERREIRA, 2014).

Resultados e Discussão

O dado referente ao teor de MS (83,5%) nos refugos da acerola na forma in diferiu natura significativamente (P< 0,05) dos valores apresentados destes resíduos quando processados com a levedura e/ou ureia 85,21% 86,66%; 86,99%; e respectivamente. Araújo (2004), afirma que este fato deve-se a formação de CO2 e evaporação de água que fez com que a massa do fermentado diminuísse e consequentemente aumentasse a

concentração da matéria seca (observou-se maior concentração de havendo ainda natura"), uma multiplicação da levedura celular principalmente quando adicionado à ureia, o que acelera o crescimento da mesma. Esse efeito pode ser explicado de acordo com Freitas (2001) que observou a concentração da diminuir à medida que se eleva o nível de ureia de 1% para 2%, atribuindo o aumento da umidade ao higroscopicidade da ureia, contribuindo para a absorção de umidade. Todavia, OS valores encontrados por PEGORARO et al (2012).

Após o processo de enriquecimento proteico do refugo de acerola apresentando valor de matéria seca similar aos recomendados pelas normas da NRC (2001).

Os valores de matéria mineral observados Tabela foram respectivamente de 5,58%; 5,54%; 5,56% e 4,58%, portanto, não houve diferença significativa (P>0,05) entre os valores deste nutriente no resíduo da acerola na forma in natura e processada com a levedura na ausência e presença da ureia, fato ocorrido devido a riqueza deste nutriente encontrado na levedura de (4,36% 5,18%) segundo (BUTOLLO, 1996).

massa no material fermentado em relação ao material na forma ("in

Foi observado teor proteico do coproduto da acerola na forma in natura do tratamento controle (Tabela equivalente a 9.85%. Para OS tratamentos dois, três e quatro valores médios encontrados foram de 17,91%; 43,11% 59,06%, respectivamente. Pode-se observar que a maior percentagem de proteína bruta do coproduto da acerola enriquecida somente com 2% de levedura foi quase cem por cento do teor deste nutriente no coproduto em estudo na forma in natura. Já os teores proteicos terceiro e quarto tratamento alcançaram valores similares ou maiores que os encontrados para a soja.

Valores encontrados neste trabalho, depois do enriquecimento proteico estão de acordo com as especificações da norma de alimentação do NRC (2001), para compensar as deficiências do pasto na época da seca.

Norma que recomenda uma suplementação proteica contendo 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.

Valores menores (26,69%) foram encontrados por Lima et al.,

(2017) ao trabalharem com enriquecimento proteico do bagaço da laranja; 37 a 40% de proteína bruta foi o maior teor encontrado para o resíduo do

caju quando enriquecido com 2% de levedura e 1% de ureia de acordo com trabalho desenvolvido por Araújo et al., (2015).

Tabela 1. Caracterização química de refugos da acerola na forma *in natura* e processada.

	VARIÁVEIS *				
TRATAMENTOS	MS	MM	PB	FDN	FDA
Refugo da acerola na forma in natura	83,5c	5,58	9,85d	36,59a	30,96
Refugo da acerola + 2% de levedura	86,99 a	5,54	17,91c	35,7ab	28,04
Refugo de acerola + 2% de levedura + 1% de ureia	85,21 b	5,56	43,11b	30,29b	27,42
Refugo de acerola + 2% de levedura + 2% de ureia	86,66 a	4,58	59,06a	30,09	26,29

^{a, b, c, d}, Médias seguidas de letras distintas nas linhas diferem (P<0,05) pelo teste Tukey. *Porcentagem com base na matéria seca.

MS- Matéria seca; MM- Matéria mineral; PB- Proteína bruta; FDN- Fibra em detergente neutro; FDA-

Fibra em detergente ácido.

De acordo com Perrazo Neto (1999) ao adicionar a ureia há uma estimulação do crescimento do microorganismo no substrato aumentando assim o teor proteico do fermentado. Corroborando Araújo et al., (2019)

afirmam através de realização do estudo cinético fermentativo do coproduto do jambolão enriquecido apenas com 2% de levedura em períodos distintos de fermentação (0; 6; 12 e 18 horas) obter maior teor proteico equivalente a 11,47% em período otimizado em 18

horas, consequentemente se tivesse adicionado uma fonte de nitrogênio não proteico(ureia) os valores proteicos

teriam sido bem mais consideráveis em relação ao teor deste nutriente na forma *in natura*.

Entretanto, a tendência dos resultados obtidos de proteína bruta no coproduto da acerola enriquecido com levedura nas condições deste trabalho, sugere a utilização do bioproduto de alto valor agregado como uma alternativa tecnicamente e economicamente viável.

Em relação aos teores de FDN encontrados condições nas deste trabalho foram encontrados para o tratamento testemunha, ou seja, o coproduto da acerola na forma in natura foi de 36,59 % e os demais tratamentos apresentaram valores de 35,7%; 30,29% e 30,09%, respectivamente. Logo, o tratamento da testemunha apresentou diferença significativa em relação aos demais tratamentos (P<0,05), já o tratamento três e quatro apresentaram diferença significativa entre si (P>0,05).

De acordo com Luciano (2014), alimentos tratados com ureia têm demostrado que a hidrólise utilizando este aditivo reduz o conteúdo de FDN. Pode-se observar que à medida que inoculou a levedura e elevou-se a adição da ureia no substrato em estudo, o teor de proteína bruta aumentou consequentemente o teor de FDN diminuiu, portanto, os teores deste nutriente encontrados no coproduto da forma inacerola na natura enriquecida proteicamente estão acima do valor mínimo recomendado pela NRC (2001) estipulado em 28%.

Segundo Catunda et al. (2010) para fibra em detergente neutro (FDN) do pedúnculo do caju enriquecido com 2% de levedura e 1% de observou-se que houve um decréscimo da fibra em detergente neutro, deferindo significativamente dos demais tratamentos. O fato é explicado como sendo devido à presença excessiva de carboidratos solúveis que produz efeito positivo sobre a fermentação.

Araújo (2004) trabalhando com o enriquecimento proteico da palma forrageira, observa-se que o teor de FDN é inversamente proporcional ao teor de proteína quando enriquecido proteicamente com o micro-organismo, ou seja, à medida que aumenta o teor proteico diminui o teor de FDN, este caso ocorrido deve-se ao consumo de carboidratos solúveis contido no substrato consumido pela levedura para síntese de proteína. Após enriquecimento protéico do coproduto da acerola com apenas com 2% de levedura apresentou FDN acima de 35%. Este valor está de acordo com Figueiredo (1996), que afirma que os alimentos com percentuais de FDN acima de 35% garantem teor normal de gordura do leite.

Observa-se ainda na Tabela 1, os valores de FDA do coproduto da acerola na forma in natura de valor de 30,96% e nos tratamentos processados de 26,29%. 28.04%: 27,42% e respectivamente. Não houve diferença entre si (P>0,05) dos tratamentos estudados em relação aos teores de FDA. Obteve-se teores médios de fibra em detergente ácido (FDA) acima de 26% na base da matéria seca. Este valor está de acordo com as recomendações do NRC (2001) para alimentação de vacas em lactação que é exigido no mínimo de 21% de FDA, com pelo menos 75% de FDN proveniente de volumoso. O coproduto da acerola enriquecido proteicamente apresentou teor de FDA suficiente para a interação entre a fibra e os carboidratos não fibrosos contidos na ração que irá promover fermentação adequada, em função da efetividade física da fibra e provocar maior mastigação ruminação, garantindo as condições normais do rúmen, produção e teor de gordura no leite de acordo com

SLATER (2000).

Observa-se ainda que existe uma correlação negativa entre o teor de FDA e o teor protéico, ou seja, quando ocorre aumento no teor protéico há uma diminuição no teor de FDA. Este fato pode ser atribuído ao consumo dos carboidratos solúveis pelos microorganismos para síntese de proteína, não ocorre o consumo carboidratos fibrosos como celulose, lignina, pois a Saccharomyces cerevisiae só metaboliza carboidratos solúveis monossacarídeos.

Conclusão

Concluiu-se que houve elevada eficiência da bioconversão dos processos, transformando os refugos da acerola em bioprodutos de alto valor agregado similar ou maior que os concentrados convencionais, podendo utilizados ser como alternativa alimentar, tecnicamente viável e de qualidade, possibilitando a incorporação dos mesmos dentro das estratégias de alimentação dos animais nos atuais sistemas de produção.

Referências bibliográficas

A.O.A.C. **ASSSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS**-Official methods of analysis. 15 ed. Arlington; 1990.

ARAÚJO, L.F. Enriquecimento protéico do Mandacaru sem Espinhos (*Cereus jamacaru* P.DC) e Palma Forrageira

Mill) (Opuntia fícusindica por Fermentação Semi-Sólida. Campina Grande-PB: Universidade Federal de Campina Grande-UFCG, (Tese de Doutorado) 197p. il. 2004.

ARAÚJO, L.F.; AGUIAR, E.M.; COELHO, R.R.P. "Processo biotecnológico para produção de ração peletizada contendo resíduos de caju". Patente de Invenção: submetida ao NIT-UFRN Número do registro - BR 10 2015 025182 3 data de depósito: 01/10/15 Universidade Federal do Rio Grande do Norte – Natal – RN. Brasil.

BUTOLO, J.E. Uso da Biomassa de Levedura em Alimentação Animal: Propriedades, custo relativo e outras formas de nutrientes. In: ITAL. Instituto Tecnológico de Alimentos. Produção de Biomassa de Levedura: Utilização em Alimentação Animal. Workshop. Campinas – SP, p. 70-89, 1996.

CATUNDA, K.L.M.; ARAUJO, L.F.; AGUIAR, E.M.; FERNANDES, D.O.V.; MATOS, J.D.P.; FERNANDES, M.F. Utilização do pedúnculo do caju para enriquecimento protéico com levedura *Saccharomyces cerevisiae* e uréia na alimentação de ruminantes. In: Congresso Nordestino de Produção Animal, 6., 2010, Mossoró.

FERREIRA, D.F. Sisvar: A Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agroecologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014. https://doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001

FIGUEIREDO, M. P. Nutrição de bovinos leiteiros e reações metabólicas. Bahia Agrícola, v.1, n.2, p. 51, 1996., 2014.

LIMA, V.F. de; ARAÚJO, L.F.; AGUIAR, E.M.; COELHO, R.R.P. Processos biotecnológicos aplicados ao bagaço de laranja para redução dos custos na

alimentação animal. **Revista Brasileira de Tecnologia Industrial.**, Ponta Grossa, v.11, n.2: p. 2466-2483, jul./dez. 2017.

LUCIANO, R.C.; SERRALHEIRO, C.; ARAÚJO, L.F.; REIS, A.A.; AGUIAR, E.M.; BORBA, L.H.F. Enriquecimento proteico de resíduos de abacaxi para alimentação alternativa de ruminantes. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária – EMEPA**, João Pessoa, PB, v. 8, n. 4, p. 47-52, out.2014.

N.R.C. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. (Washington). **Nutrient requirements of beef cattle.** 6. ed. Washington: National Academy of Science, (Nutrients requirements of domestic animals, 6) v.1. p.157,2001.

PELIZER, L.H. **Desenvolvimento de um processo de Cultivo em Estado Sólido de** *Spirulina Platensis*. Universidade de São Paulo Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2000. (Tese de Doutorado).

PERAZZO NETO, A. Determinação de parâmetros para o enriquecimento protéico da algaroba (*Prosopis juliflora*) com *Aspergillus niger*. 1999. 130f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

SILVA, J.D. **Análise de Alimentos** (**métodos químicos e biológicos**). Editora UFV. São Paulo, 1998.

SLATER, A.L., EASTRIDGE, M.L. FIRKINS, J.L..Effects of starch source and leved of forage neutral detergent fiber on performance by dairy sews. Journal of Dray Science. v.83, n.2, p. 313–321,2000.