Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"

RAFAEL DOS SANTOS NARDOTTO

Determinação do teor de proteína bruta da *Brachiaria brizantha Stapf e* sua viabilização na produção industrial de ração animal e suplemento alimentar

ASSIS/SP
2016

Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"

RAFAEL DOS SANTOS NARDOTTO

Determinação do teor de proteína bruta da *Brachiaria brizantha Stapf e* sua viabilização na produção industrial de ração animal e suplemento alimentar

Trabalho de conclusão de curso do Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA e a Fundação Educacional do Município de Assis – FEMA, como requisito parcial à obtenção do Certificado de Conclusão.

Orientador (a): Prof.ª. Ma. Flávia Augusta Marquezini.

ASSIS/SP
2016

FICHA CATALOGRÁFICA

NARDOTTO, Rafael dos Santos.
Determinação do teor de proteína bruta da Brachiaria Brizantha Stapf e sua viabilização na produção industrial de ração animal e suplemento alimentar / Rafael dos Santos Nardotto. Fundação Educacional do Município de Assis – FEMA – Assis, 2016.
67 p.

1. Brachiaria. 2. Proteína.

CDD: 660
Biblioteca da FEMA

Determinação do teor de proteína bruta da *Brachiaria brizantha Stapf e* sua viabilização na produção industrial de ração animal e suplemento alimentar

RAFAEL DOS SANTOS NARDOTTO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação, avaliado pela seguinte comissão examinadora:

Orientador(a): _____
Ma. Flavia Augusta Marquezini

Examinador(a): _____
Drª. Rosângela Aguilar Da Silva

ASSIS/SP
2016

DEDICATORIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, minha primeira inspiração Vovô Celestino, à minha tia Roseli dos Santos Ribeiro e não tão importante quanto, àquela que esteve lá quando nasci e verá que venci, minha querida e insubstituível mãe Aparecida dos Santos. Ao meu querido filho Davi e à pessoa que com paciência e companheirismo esteve e está ao meu lado Paula. Além dos demais amigos e familiares a quem tanto me suportaram e impulsionaram.

AGRADECIMENTOS

À professora, Flávia Augusta Marquezini pela orientação e pelo constante estímulo durante o trabalho, ao grande amigo e professor Dr. Reineiro Antônio Lérias que tanto me presenteou com sua inegável sabedoria e conhecimento de mundo histórico, léxico e globalizado, aos professores Paulo Mazzante de Paula, Fernando Alves de Brito, Luiz Fernando Kazmierczak, professor Valverde e ao meu querido amigo, chefe, major, professor Adriano Aranão.

Aos amigos e companheiros desta obra o professor Alexandre Vinicius Guedes Mazalli, e ao grande conhecedor de tudo sobre análise bromatológica o companheiro Aleicho, o Sérgio e todos os que trabalham no laboratório do CEPECI – FEMA além da pessoa mais prestativa do laboratório de química da FEMA, técnico responsável e professor Fernando.

Agradeço imensamente de uma forma geral todos os meus familiares e companheiros do dia a dia, que se envolveram de forma direta ou indireta nesta pesquisa, dando – me apoio psicológico, físico, intelectual e principalmente financeiro na execução deste trabalho.

A ausência da evidência não significa
evidência da ausência.

(Carl Sagan)

RESUMO

A *Brachiaria* é comumente chamada como “erva daninha” por várias atividades agrícolas, mas de importância indubitável ao criador de ruminantes de corte/leite. Na região geoeconômica do centro oeste paulista, essas plantas silvestres possuem ótimos potenciais proteicos. O objetivo deste trabalho foi determinar o teor de proteína bruta da *Brachiaria brizantha Stapf* por meio do método de micro Kjeldahl, e propor um produto de minerais e proteína, sugerindo novas formas na produção de ração animal e suplementação sustentável. As amostras foram coletadas, processadas e quantificadas pelo método de micro Kjeldahl. A identificação das espécies de *Brachiaria* foram efetuadas com base na morfologia, fisiologia e taxonomia do padrão da planta e da região de potencial hidrométrico sedimentar propício. Os resultados mostraram que as amostras apresentaram alto potencial proteico na matéria orgânica bruta seca. O estudo das amostras revelou que estão condizentes com valores propostos pela literatura de 9 a 10%, para desenvolvimento de produto suplementar de proteína destinado a este nicho. As amostras coletadas, na cidade de Ourinhos-SP apresentou 6,15% de proteína e na região de Platina-SP 7,93%, resultado expressivo de g por kg (%) de proteína bruta, levando–se em consideração os fatores inerentes e interferentes na determinada época do ano. Assim sendo fora desenvolvido um produto na forma de suplemento e realizado teste bromatológico e quantificação das matérias minerais anexadas.

Palavras-chave: Brachiaria brizantha. Erva Daninha. Matéria Orgânica. Proteína Bruta.

ABSTRACT

Brachiaria is commonly referred to as "weed" for various agricultural activities, but of undoubted importance to the breeder of cut ruminants / milk. In the geoeconomic region of central-western São Paulo, these wild plants have excellent protein potentials. The objective of this work was to determine the crude protein content of *Brachiaria brizantha Stapf* using the micro Kjeldahl method and to propose a product of minerals and protein, suggesting new ways in animal feed production and sustainable supplementation. Samples were collected, processed and quantified by the micro Kjeldahl method. The identification of the species of *Brachiaria* were carried out based on the morphology, physiology and taxonomy of the plant pattern and the region of propitious sedimentary hydrometric potential. The results showed that the samples presented high protein potential in dry crude organic matter. The study of the samples revealed that they are compatible with values proposed in the literature of 9 to 10% for the development of supplementary protein product destined to this niche. The samples collected, in the city of Ourinhos-SP, presented 6,15% of protein and in the region of Platina-SP 7,93%, expressive result of g per kg (%) of crude protein, taking into account the inherent factors And interferers at a given time of year. Therefore, a product was developed as a supplement and carried out a bromatological test and quantification of the attached mineral materials.

Keywords: *Brachiaria brizantha.* Weed. Organic matter. Crude Protein.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1: Brachiaria Brizantha Stapf cv. Marandu..... 23
FIGURA 2: Fórmula estrutural de um aminoácido genérico..... 26
FIGURA 3: Estrutura primária de uma proteína..... 27
FIGURA 4: Comparativo estruturas proteicas..... 27
FIGURA 5: Reação de formação do Biureto..... 29
FIGURA 6: Organograma do método de Lowry..... 30
FIGURA 7: Ciclo dos fatores que interferem..... 42
FIGURA 8: Formação do reagente de Biureto..... 44
FIGURA 9: Células de matéria orgânica..... 45
FIGURA 10: Interação ligação peptídica..... 46
FIGURA 11: Material utilizado na prática do Ensino Médio..... 46
FIGURA 12: Amostras separadas..... 47
FIGURA 13: Amostras prontas para a análise..... 48
FIGURA 14: Tubos de ensaio com as amostras..... 49
FIGURA 15: Resultados proteicos da aplicação..... 50
FIGURA 16: *Brachiaria brizantha*, na cidade de Ourinhos..... 51
FIGURA 17: Preparo das amostras do micro Kjeldahl..... 52
FIGURA 18: Análises Micro Kjeldahl..... 52
FIGURA 19: Análises em andamento..... 53
FIGURA 20: Análises-Titulações e viragens..... 53
FIGURA 21: Produto Final..... 59

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Amostra de gramínea Ourinhos-SP..... 54
TABELA 2: Coleta realizada na cidade de Platina-SP..... 54
TABELA 3: Amostra de gramínea bovinos de piquete..... 55
TABELA 4: Amostra de gramínea bovinos de corte do MS..... 55
TABELA 5: A importância da questão do capim mais novo..... 56
TABELA 6: Amostra de gramínea de bovinos de manejo..... 56
TABELA 7: e amplitude dos resultados apresentados e os comparativos cedidos pela AGROLAB..... 57
TABELA 8: Resultados da análise bromatológica final..... 58

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO..... 14

2. PARÊNTESE HISTÓRICO..... 16

2.1 ENSAIO BOTÂNICO: HISTÓRIA, EVOLUÇÃO, CLASSIFICAÇÃO E TAXONOMIA DO TRANSPORTE DE NUTRIENTES DA PLANTA..... 18

3. A QUÍMICA E A EVOLUÇÃO DA ALIMENTAÇÃO HUMANA..... 24

4. ENFOQUE BIOQUÍMICO DA PROTEÍNA..... 26

5. METODOLOGIAS..... 28

5.1 MÉTODO DE KJELDAHL..... 28

5.2 MÉTODO DE BIURETO 29

5.3 MÉTODO DE LOWRY 30

6. MATERIAIS E MÉTODOS..... 31

6.1 MATERIAIS, EQUIPAMENTOS E VIDRARIAS..... 31

6.2 REAGENTES E SOLUÇÕES..... 31

6.3 AMOSTRAS..... 32

6.4 PROCEDIMENTOS..... 33

6.4.1 Neutralização..... 34

6.4.2 Destilação..... 34

6.4.3 Titulação..... 35

7. MACROMOLÉCULAS IMPORTANTES NA PRODUÇÃO DA RAÇÃO..... 36

8. FATORES INTERFERENTES NAS ANÁLISES..... 40

8.1 SOLO..... 40

8.2 ÁGUA..... 40

8.3 TEMPERATURA..... 40

8.4 PLANTA..... 41

9. A DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA NO CONTEXTO DO ENSINO MÉDIO E SUAS APLICABILIDADES..... 43

9.1. PRÁTICA DE ENSINO NO ENSINO MÉDIO – TESTE DE 44

PROTEÍNAS..... 44
9.1.1 INTRODUÇÃO..... 44
9.1.2. OBJETIVO..... 45
9.2. MATERIAL UTILIZADO..... 45
9.2.1. REAGENTES..... 45
9.2.2. METODOLOGIA..... 45
10. RESULTADOS E DISCUSSÕES (ENSINO MÉDIO)..... 46
11. RESULTADOS E DISCUSSÃO DAS ANÁLISES PROTEICAS..... 51
12. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 60
REFERÊNCIAS..... 62

1. INTRODUÇÃO

O Termo “erva daninha” é comumente utilizado para qualificar plantas indesejáveis em relação à determinada atividade antrópica. Essas “plantas invasoras” são usualmente definidas erroneamente como plantas silvestres, mato. Ao menos 20% das espécies daninhas não são herbáceas, mas sim arbustivas ou até arbóreas como a maioria das plantas daninhas de pastagem (BRIGHENTI; OLIVEIRA, 2011).

São classificadas como daninhas “comuns”, aquelas que não possuem habilidade de sobreviver em condições adversas, e plantas daninhas “verdadeiras” que têm essa habilidade de se fixarem em regiões inóspitas, pois são resistentes à pragas e doenças (OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN; INOUE, 2011).

A domesticação das plantas foi se dando ao longo da história, e de certa forma o homem vem ampliando a capacidade de melhoramento de espécies, tanto para a agricultura quanto para a pecuária, hoje existem infinitas variedades de Brachiarias e *Panicum* totalmente adaptadas ao território brasileiro e seu clima subtropical favorece a rusticidade e produtividade da matéria seca (BRIGHENTI; OLIVEIRA, 2011).

Ainda segundo Brighenti; Oliveira (2011), na verdade as plantas daninhas surgiram pelo viés agrícola humano, onde o homem vem de certa forma separando as “plantas cultiváveis” das demais ditas daninhas e ainda criando o ambiente favorável a cada uma delas com repetidas aplicações de herbicidas de um mesmo mecanismo de ação gerando biótipos resistentes.

Uma das plantas daninhas mais encontradas em território nacional é a Brachiaria. A *Brachiaria brizantha Stapf*, mais conhecida como *Brachiaria Brizantha*, *Braquiarão* ou *Brizantão* encontrada em solo com média a alta fertilidade, apresentada como forma de crescimento touceira semi ereta podendo atingir até um metro ou um metro e meio de altura. Foi introduzida no Brasil como forrageira e inclui grande número de espécies com diversas variedades características originárias de regiões tropicais e subtropicais, “o gênero Brachiaria é muito amplo com cerca de 80 espécies, na grande maioria de origem africana” (ALVIM; BROTEL; XAVIER 2002). A *Brachiaria brizantha* é perene de formação rápida, propicia grande produção de massa verde, bem palatável e sendo utilizada no manejo de animais de corte e de produção leiteira pois suporta pisoteio pesado. Sua forma de disseminação é por meio de sementes mais precisamente a divisão do

endocarpo e apesar de seu aspecto de crescimento é utilizada também em áreas de declive pois auxilia como controle de erosão e drenagem do solo (CPT, 2015).

Segundo SOARES (1997), o Brizantão apresenta 9 a 10% de proteína bruta e 50 a 60% de digestibilidade de matéria orgânica seca ou orgânica, portanto alto teor de proteína (unidades de atividade enzimática/g de proteína) (BIN, 2011).

É indubitável a importância em se renovar a cada dia alternativas de fontes de alimentos no mundo, não é mansa e pacífica a questão de relatórios recentes da Organização das Nações Unidas para a alimentação e a Agricultura (FAO) mostrarem que ainda existem no planeta aproximadamente 805 milhões de pessoas, uma em nove, sofrendo de fome na sua forma crônica (CAMPOS, 2014).

É notória a evolução dos países em desenvolvimento no combate à fome mas há muito por fazer neste âmbito. Como se pode então perder essa oportunidade de contribuir com o consumo sustentável?

O objetivo deste trabalho foi determinar o teor de proteína bruta da *Brachiaria brizantha Stapf* por meio do método de micro Kjeldahl, e propor um produto misto de minerais e proteína.

2. PARÊNTESE HISTÓRICO

A preocupação do homem, no transcorrer de sua história, a de buscar o lucro de imediato e a qualquer preço acabou deixando de lado ou relegando a um plano inferior aqueles vegetais que desconhecia, sem se importar com o fato deles poderem ser uma fonte infinita de alimentos capazes de sanar a problemática da fome, em várias partes do mundo chamado globalizado (ARMESTO, 2004).

A maioria das plantas cultivadas e das espécies animais domesticados difere morfologicamente de seus ancestrais selvagens: por exemplo, no tamanho menor do gado e das ovelhas domesticadas, no tamanho maior das galinhas e das maçãs, nas sementes de pera menores e mais macias, e na forma dos chifres dos bodes (DIAMOND, 2005).

Em um extremo estão áreas em que a produção de alimentos surgiu de forma independente, com o cultivo de muitos vegetais e, em alguns casos antes da chegada de produtos e animais de outros lugares. Existem apenas cinco desses lugares no globo onde pode-se considerar a veracidade comprovada: sudoeste da Ásia, também conhecida como Crescente Fértil; China; Mesoamérica (o centro e o sul do México e áreas adjacentes); os Andes na América do Sul, e possivelmente a Bacia Amazônica; e o Leste dos Estados Unidos. Alguns ou todos esses centros podem, na verdade, abranger vários locais próximos onde a produção de alimentos surgiu de modo mais ou menos independente, como o vale do rio Amarelo, no norte da China, e o vale do rio Yang-tsé, no Sul deste mesmo país (DIAMOND, 2005).

Além dessas cinco áreas pode-se ressaltar outras quatro onde a produção de alimentos também se iniciou de modo independente: a região africana do Sael, o tropical oeste africano, a Etiópia e a Nova Guiné. Existe, no entanto, algumas divergências em alguns casos, tais como, embora plantas silvestres nativas tenham sido indiscutivelmente domesticadas no Sael, ao sul do Saara, a criação de animais pode ter precedido a agricultura na região; ou ainda, se o gado foi domesticado lá ou se o gado domesticado no Crescente Fértil impulsionou com sua chegada o cultivo das plantas. Assim não se tem certeza também se a chegada das culturas do Sael impulsionou a domesticação de plantas silvestres nativas no oeste tropical e até que ponto a chegada de culturas do sudoeste da Ásia acelerou o cultivo de plantas silvestres na Etiópia (DIAMOND, 2005).

Entre todas as áreas prováveis de produção independente de alimentos no início da evolução desta prática, o continente asiático tem datas mais antigas e precisas, tanto na domesticação de plantas (por volta de 8500 a.C.), quanto de animais (por volta de 8000 a.c.), as datações de carbono 14 (isótopo radioativo do carbono 12, utilizado para método de datação arqueológica) são cerca de 6000 anos antes das datações de nichos arqueológicos do leste dos Estados Unidos (DIAMOND, 2005).

Ainda há mais três áreas onde a domesticação de plantas silvestres e a domesticação de animais, tal como a produção de alimento, dependia principalmente de produtos levados de outras regiões, são elas: Europa central e ocidental, Vale do Indo no sudoeste da Ásia e o Egito (ARMESTO, 2004).

No Egito inclusive ao que tudo indica os nossos antecedentes simplesmente aprenderam a ser fazendeiros e criadores, adaptando as técnicas do sudoeste da Ásia à sua própria dieta de plantas e animais selvagens, logo depois gradativamente anexando as culturas agrícolas e os animais de povos estrangeiros, e expulsando literalmente os invasores territoriais (DIAMOND, 2005).

Aos poucos, portanto essa origem não pode ser mais considerada como algo singular aquém ao característico da história do relacionamento entre pessoas e plantas. A agricultura foi uma revolução por acidente, um modo que foi sendo introduzido involuntariamente no processo evolucionário calcado pela praticidade e pela seletividade (ARMESTO, 2004).

É importante ressaltar que esse processo evolutivo de longo prazo, como maior impacto do que qualquer outra evolução humana, seu impacto em termos de pastagens, de estruturas ecológicas e até mesmo de dietas foi tão superior ao impacto dos caçadores e pescadores que não se pode nem os comparar. Hoje em dia, todos os carboidratos que se consomem e por volta de três quartos da ingestão de proteína vêm de plantas, que fornecem cerca de 90% da alimentação mundial. Quase todos os animais da cadeia alimentar humana são alimentados por rações provenientes da agricultura, essa que por sua vez, ainda nos tempos da tecnologia exacerbada domina a economia mundial: exceto quanto ao número de pessoas empregadas para produzi-la, a geração de alimentos não cedeu sua supremacia econômica a qualquer outra das novas atividades das revoluções industrial e pós-industrial (ARMESTO, 2004).

2.1 ENSAIO BOTÂNICO: HISTÓRIA, EVOLUÇÃO, CLASSIFICAÇÃO E TAXONOMIA DO TRANSPORTE DE NUTRIENTES DA PLANTA

A identificação da planta correta de *brizantha* leva em consideração uma característica específica da construção do pecíolo que acompanha a planta ao final da folha com comprimento máximo usual de 1,5 m acima do solo. Observando que no Brasil geralmente é encontrada mais duas espécies comuns, a *decubens* mais forrageira e a *Humidícula,* como espécie intermediária clássica (FERRI,1985). A água absorvida do solo chega às folhas através dos vasos que aí formam um sistema de nervuras, e quanto maior a superfície foliar mais eficiente será a fotossíntese assim se compreende o limbo ou lâmina foliar. Este se prende ao caule por uma parte geralmente cilíndrica, mas resistente, o pecíolo, cuja inserção do caule pode ser direta ou através de uma expansão mais ou menos desenvolvida, à bainha. A base da folha as vezes emite estípulas, expansões pequenas como no café, ou grandes como na ervilha (FERRI, 1983).

O pecíolo pode se expandir em ambos os lados, no plano horizontal, numa formação aliforme, e se este for ausente a folha é chamada séssil, e tem inserção direta no caule (FERRI, 1983).

É importante frisar, que com tantas variantes encontra-se até a espécie mais forrageira com alturas expressivas, por isso leva-se ainda a caracterização de tamanho de folhagem, inclinação em relação ao solo além da construção dos vasos condutores de seiva.

Historicamente observa-se que algumas plantas de pequeno porte apresenta um sistema de difusão/osmose para o transporte de nutrientes pelo dorso, ou seja, não possuem xilema nem floema, praticamente todas as células são capazes de transportar e sintetizar o alimento, são chamadas plantas avasculares. Estas possuem datações históricas cerca de 475 milhões de anos. Mas com o passar dos anos ao passo que as plantas saíam da exclusividade aquática dominando a terra era necessário um sistema mais eficaz e complexo no transporte e na transpiração da planta (FERRI, 1985).

Eis aí a importância de se evidenciar o grupo das plantas vasculares, encontradas desde 420 milhões de anos para as Pteridófitas (não apresentam sementes) e 360 milhões de anos para as Angiospermas e Gimnospermas (apresentam sementes), esta última à qual a *Brachiaria* faz parte (FERRI, 1985).

Os vasos condutores são divididos em xilema (lenha ou tecido traqueado, transporta seiva bruta, água e substâncias inorgânicas das raízes para às folhas em sentido ascendente), e floema (líber ou tecido floémico, transporta seiva elaborada, água e substâncias orgânicas), proteína por exemplo, das folhas até os outros grãos das plantas (FERRI, 1985).

A folha é a principal sede de elaboração de alimentos orgânicos sob a ação da luz (fotossíntese) e de eliminação de água na forma de vapor (transpiração). Seus tecidos constituintes são, na maior parte, vivos e respiram. Uma folha completa possui as seguintes partes: limbo, pecíolo, bainha e estípulas; qualquer destas partes pode, entretanto, faltar. Menos frequente é a ausência parcial ou total do limbo. Quando isso ocorre outra parte da planta pode expandir-se, para que seja mantida a fotossíntese. A água absorvida do solo chega às folhas através dos vasos que aí formam um sistema de nervuras, e quanto maior a superfície foliar mais eficiente será a fotossíntese assim se compreende o limbo ou lâmina foliar. Este se prende ao caule por uma parte geralmente cilíndrica, mas resistente, o pecíolo, cuja inserção do caule pode ser direta ou através de uma expansão mais ou menos desenvolvida, a bainha. A base da folha as vezes emite estípulas, expansões pequenas como no café, ou grandes como na ervilha (FERRI, 1983).

O pecíolo pode se expandir em ambos os lados, no plano horizontal, numa formação aliforme, e se este for ausente a folha é chamada séssil, e tem inserção direta no caule (FERRI, 1983).

A par disso, tem-se uma certa dificuldade de classificar taxionomicamente (responsável por estabelecer critérios e classificar todos os animais e plantas sobre a Terra em grupos de acordo com as características fisiológicas, evolutivas e anatômicas e ecológicas de cada animal ou grupo animal), a anatomia e a organografia (formação histológica dos vegetais), da *Brachiaria Brizantha*. Mas alguns estudiosos taxionomistas apontam que pertence à família Poaceae, em que estão a maior parte das forrageiras, subfamília Ponicoideae, tribo Paniceae. Por outro lado, os mais tradicionalistas, devido inclusive pela própria alta variabilidade da espécie, trabalham com a denominação Cyperales (ou Cyperalis, geralmente considerado como forma incorreta) para uma ordem de monocotiledôneas que inclui ambas as famílias Cyperaceae e Poaceae. Opinião diversa tem o Grupo de Filogenia das Angiospermas (APG) que, desde 1998, tem classificado as plantas segundo sua proximidade genética, comparando suas sequências gênicas. Para

esses biólogos estadunidenses Poales é uma das dez ordens em que se divide a classe das monocotiledôneas (Liliopsida) e as outras ordens são: Acorales, Alismatales, Asparagales, Dioscoreales, Liliales, Pandanales, Arecales, Commelinales e Zingiberales (QUEIROZ, 2012).

De acordo com este mesmo grupo a ordem Poales é constituída por 18 famílias, entre as quais estão a Cyperaceae e a Poaceae. Há uma tendência de imposição do ponto de vistas norte-americano nesta área da ciência, assim como em outras áreas da cultura mundial.

Ascendência filogenética das braquiárias:

Reino: Plantae;

Divisão: Magnoliophyta;

Classe: Liliopsida;

Ordem: Poales;

Famílias da Poales: Anarthriaceae, Bromeliaceae, Centrolepidaceae, Cyperaceae, Ecdeiocoleaceae, Eriocaulaceae, Flagellariaceae, Hydatellaceae, Joinvilleaceae, Juncaceae, Mayacaceae, Poaceae, Rapateaceae, Restionaceae, Sparganiaceae, Thurniaceae, Typhaceae e Xyridaceae.

Subfamílias da Poaceae forrageiras (classificação de Engler): Pooideae, Erarostoieae, Panicoideae e Andropogonoideae.

Tribos da Panicoideae: Paniceae e Melineae;

Gêneros da Paniceae: Brachiaria, Cenchrus, Digitaria, Echinocloa, Panicum, Paspalum, Pennisetum e Setaria (QUEIROZ, 2012).

Na fisiologia vegetal vê-se que a transpiração nas plantas por perda de água é essencial mesmo que seja um ponto negativo para seu balanço hídrico, mas durante essa transpiração ocorre a refrigeração da folha. A água rouba uma quantidade de calor significativa da folha quando passa de um estado líquido para gasoso na câmara subestomática (amplo espaço intercelular localizado abaixo do estômato). Esse processo é importantíssimo no transporte de nutrientes em longa distância (da raiz para a copa) quando a folha transpira puxa a coluna de água para cima, e ademais pelo mesmo poro é absorvido o CO_2 a ser assimilado, portanto a nutrição mineral, balanço de carbono e

balanço hídrico estão relacionados por meio deste aparato estomático (PRADO; CASALI, 2006).

O aparato estomático (poro, células guarda e células subsidiárias) é o sítio de maior troca de gases entre a folha e o meio ambiente, neste local ocorre a entrada de CO_2 primeiro na forma gasosa e após a carboxilação e a assimilação do estroma do cloroplasto (organela presente nas plantas, responsável por parte da fotossíntese e pela pigmentação verde por conter clorofila), na forma de açúcar solúvel para as diversas rotas metabólicas. Esses estômatos em sua maioria estão presentes na epiderme inferior (abaxial) mas também são encontrados em menor quantidade na parte superior (adaxial), todavia é de suma importância salientar que essa abertura de poros deixa determinada vulnerabilidade à entrada de infecções de fungos, bactérias ou poeira. E na espécie estudada, que possuem folhas na qual normalmente se posicionam perpendicular ao solo, apresentam densidade estomática similar entre epidermes inferior e superior conferindo nessa posição uma diminuição nos problemas mecânicos de obstrução e de infecção (PRADO; CASALI, 2006).

Um sistema de síntese proteica vegetal contém os ribossomos, acrescidos dos 20 aminoácidos, de tRNA, mRNA, um sistema gerador de nucleotídeos ATP (adenosina trifosfato), GTP (guadinina trifosfato), CTP (citidina trifosfato), Mg^{2+} , K^{1+} . Na célula vegetal a síntese proteica se dá em quatro principais estágios (CROCOMO, 1985):

1º Estágio – É o passo de ativação dos aminoácidos, quando eles são enzimaticamente esterificados aos tRNA correspondentes; esse estágio exige ATP e Mg^{2+} .

2º Estágio – Forma-se um complexo iniciador pela união do mRNA e do aminoacil-tRNA iniciador à uma subunidade ribossômica 30 S livre, a qual então se prende à subunidade ribossômica 50 S; percebe-se neste momento que o aminoacil-tRNA que entra esta como derivado N-acil para assegurar que a cadeia polipeptídica se inicie assim que a mensagem genética é transmitida.

3º Estágio – A cadeia polipeptídica é alongada pela adição de novos aminoacil que vêm de aminoacil-tRNAs, cada um deles especificados por um códon no mRNA; quando cada nova ligação se completa, o mRNA e a cadeia peptidil-tRNA são movidos ao longo do ribossomo fazendo com que um novo códon fique em posição ajustada para receber um novo aminoacil-tRNA; esse estágio exige CTP (citidina trifosfato).

4º Estágio – É o término da cadeia polipeptídica; para tanto há sinais que atingem o mRNA; a cadeia completa se libera do ribossomo.

Já a formação do aminoacil-tRNA é através da mediação do tRNA que ajusta os aminoácidos previamente ativados em sequência sobre o molde de mRNA.

Esse sistema de síntese proteica não deve ter contaminação por bactérias, principalmente quando se trata de incorporação por mitocôndrios ou cloroplastos isolados, os quais se assemelham, em tamanho, muito mais à bactérias do que aos ribossomos, e portanto se sedimentarão junto com elas na configuração (CROCOMO, 1985).

Além desse último fator, um melhor desenvolvimento pode se notar quando o solo é farto em um macro nutriente o fósforo, que vai participar da formação dos nucleotídeos, e de um micronutriente o boro que estará presente como cofator de várias enzimas, estimulando assim diversas reações do metabolismo primário das plantas (DORNELES; CUNHA, 2005).

Em consonância com o acatado, o sistema solo-planta é um sistema aberto em que os elementos (M) são constantemente removidos de um lado, a fase sólida do solo, e acumulados no outro, a planta (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997):

M (fase sólida) – M (solução) – M (raiz) – M (parte aérea).

Fase sólida = reservatório = matéria orgânica + fração mineral.

Solução = compartimento para absorção radicular.

Reações de transferência:

Fase sólida – solução = disponibilidade, dessorção e mineralização da matéria orgânica.

Solução – fase sólida = adsorção, fixação, imobilização.

Solução – raiz = absorção; raiz = troca, excreção, vazamento; raiz (parte aérea) = transporte a longa distância. Parte aérea – raiz = redistribuição.

A planta em si nativa é apresentada conforme a seguir:

Figura 1: Brachiaria Brizantha. Disponível em: <httpmlb-d2-p.mlstatic.comcapim-brachiaria-brizantha-cv-marandu-36-vc-pacote-10-kg-21388-mlb20209367715_122014-f.jpgsquare=false> acesso em 05 Jul. 2016.

3. A QUÍMICA E A EVOLUÇÃO DA ALIMENTAÇÃO HUMANA

A explosão da primeira bomba atômica, o primeiro vôo de avião e o aparecimento de um líquido incolor na ponta de um instrumento complexo no laboratório em Karlsruhe na Alemanha, numa tarde de 1909, não parece muito grandioso. Mas isso para alguns foi o descobrimento tecnológico mais marcante do século XX. O líquido era amônia, e o equipamento que o sintetizou, a partir de seus elementos constituintes, hidrogênio e nitrogênio. O químico era Fritz Haber (1868 – 1934) com a ajuda do engenheiro Willian Carl Bosch (1874 – 1940). A partir de então, (em resposta ao senhor Willian Ramsey (1852 – 1916) que em 1898 havia alarmado a comunidade agrícola industrial mundial, que a produção de alimentos cairia desastrosamente devido à falta de fertilizantes nitrogenados que aquela época era somente encontrada em sua forma natural, essa que por sua vez, já se encontrava escassa), a amônia pode ser utilizada diretamente como fertilizante ou ainda como matéria prima para a fabricação de fertilizantes nitrogenados. Vale lembrar, que Fritz Haber ainda percebeu que quando a amônia é oxidada produz ácido nítrico, importante na fabricação de explosivos. Tal feito, rendeu aos dois precursores o prêmio Nobel de química no ano de 1918 (STANDAGE, 2010).

A reação que Fritz Haber obteve foi:

$N_{2\,(g)} + 3H_{2\,(g)} \leftrightarrow 2NH_{3\,(g)}$ $\Delta H = -92{,}22$ KJ

E observou ainda que a 25 °C temos:

(1)

$2\,NH_{3\,(g)} + 3/2\,O_{2\,(g)} \rightarrow N_{2\,(g)} + 3\,H_2O_{(l)}$ $\Delta H\theta = -765$ kJ $\Delta G\theta = -680$ kJ $K = 10^{228}$

(2)

$2\,NH_{3\,(g)} + 5/2\,O_{2\,(g)} \rightarrow 2\,NO_{(g)} + 3\,H_2O_{(l)}$ $\Delta H\theta = -584$ kJ $\Delta G\theta = -505$ kJ $K = 10^{168}$

Percebe-se que a Cinética → desfavorece as duas reações, ou seja, não ocorrem à temperatura ambiente. A quebra das ligações requer muita energia. N–H → N• + H• consome 388 kJ O=O → O: + O: consome 496 kJ.

Termodinâmica ($\Delta G\theta = -RT \ln K$) → favorece equação (1)

Reações prosseguindo até atingir equilíbrio → formação preferencial de N_2.

A mistura de ar e amônia passa rapidamente pelo catalisador (FeO), o qual favorece a reação que produz NO. Assim, o fator velocidade determina as quantidades relativas de NO e N_2 produzidas, e não os parâmetros termodinâmicos. A reação libera tanto calor que o catalisador se mantém incandescente (STANDAGE, 2010).

Esse acontecimento abriu uma nova e valiosa, além de muito necessária, fonte de fertilizantes tornando possível uma vasta expansão da oferta de alimentos, e em consequência da população humana. O elo entre o amoníaco e a nutrição humana é o nitrogênio. Componente vital para todo tipo de tecido animal e vegetal, principal responsável pelo crescimento vegetal e ainda pelo conteúdo proteico dos cereais. Nos cereais a ausência do nitrogênio resulta em crescimento limitado, folhas amarelas, safras reduzidas e baixo nível proteico. Compostos de nitrogênio tais como: proteínas, aminoácidos e DNA, também tem papel importante e decisivo no metabolismo de plantas e animais, componente presente em toda célula viva (STANDAGE, 2010).

Ainda segundo Tom Standage (2010), os seres humanos dependem necessariamente em primeiro plano da ingestão de dez aminoácidos, todos formados em torno de um átomo de nitrogênio, para sintetizar as proteínas que o corpo precisa para o crescimento e manutenção dos tecidos. Essa “revolução verde” abriu caminho para uma expansão sem precedentes da população humana, de 1,6 bilhão para 6 bilhões no decorrer do século XX, além de possibilitar centenas de milhões de pessoas da pobreza e sustentar o renascimento histórico das economias asiáticas, promovendo rápida industrialização da China e da índia desenvolvimentos que estão transformando a geopolítica.

4. ENFOQUE BIOQUÍMICO DA PROTEÍNA

É de suma importância abordar a questão bioquímica da formação das proteínas, através da ótica orgânica de formação de compostos nitrogenados evidenciando os aminoácidos, estruturas orgânicas formadas por átomos de carbono (C), hidrogênio (H), oxigênio (O) e nitrogênio (N), na qual alguns podem conter enxofre em sua composição. Todas as moléculas de aminoácidos contêm um grupo carboxílico (COOH), um grupo amina (NH_2) e um átomo de hidrogênio (H), ligados a um átomo de carbono, chamado de carbono alfa. A esse mesmo carbono alfa também é ligado um radical, genericamente chamado de R que é o responsável por diferenciá-los entre si (GONÇALVES, 2015). A molécula de aminoácido se forma como mostra a figura 2:

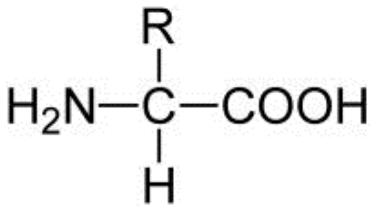


Figura 2: Fórmula estrutural de um aminoácido genérico http://www.infoescola.com/wp-content/uploads/2008/05/aminoacido.jpg

Os aminoácidos reagem entre si pelo grupo amino inicial com o grupo ácido terminal formando ligações amídicas ou peptídicas. As ligações feitas do tipo aminoácido-aminoácido, de 2 a 5 aminoácidos envolvidos são chamados de peptídeos, já acima de 5 aminoácidos envolvidos são chamados de polipeptídios e por 50 ou mais aminoácidos envolvidos em geral obtém-se proteínas (MARZZOCO, 2007).

As estruturas proteicas por sua vez, apresentam também classificações quanto à sua complexidade. A estrutura primária é dada pela sequência de aminoácidos e ligações peptídicas da molécula onde forma um arranjo linear, semelhante a um “colar de contas”. A figura 3 a seguir apresenta uma estrutura primária:

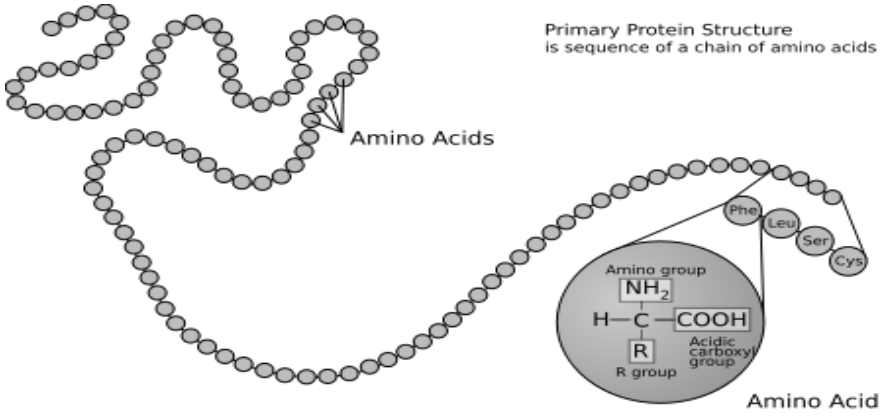


Figura 3: Estrutura primária de uma proteína genérica <http://www.genome.gov/Pages/Hyperion//DIR/VIP/Glossary/Illustration/amino_acid.shtml / Public> acesso: 16 Nov. 2015.

Por outro lado a estrutura secundária é dada pelo arranjo espacial de aminoácidos próximos entre si na sequência primária da proteína em uma α-hélice. Ocorre graças à possibilidade de rotação das ligações entre os carbonos alfa dos aminoácidos e os seus grupos amina e carboxila. Contudo, apesar de α-hélice ser uma estrutura secundária mais simples, podem ocorrer outras conformações possíveis que se faz jus ser mencionada é a beta-conformação ou β-pregueada, que leva esta denominação devido a semelhança da estrutura à uma folha de papel dobrada em ziguezague. A molécula terciária resulta do enrolamento da hélice, sendo estabilizada por pontes de hidrogênio e pontes dissulfeto, é literalmente um dobramento da proteína, adquirindo uma estrutura tridimensional.

Por conseguinte tem-se a estrutura quaternária onde algumas proteínas podem ter duas ou mais cadeias polipeptídicas em estrutura tridimensional (LEHNINGER, 2010).

A figura 4 a seguir apresenta uma representação das possíveis estruturas proteicas ordenadas:

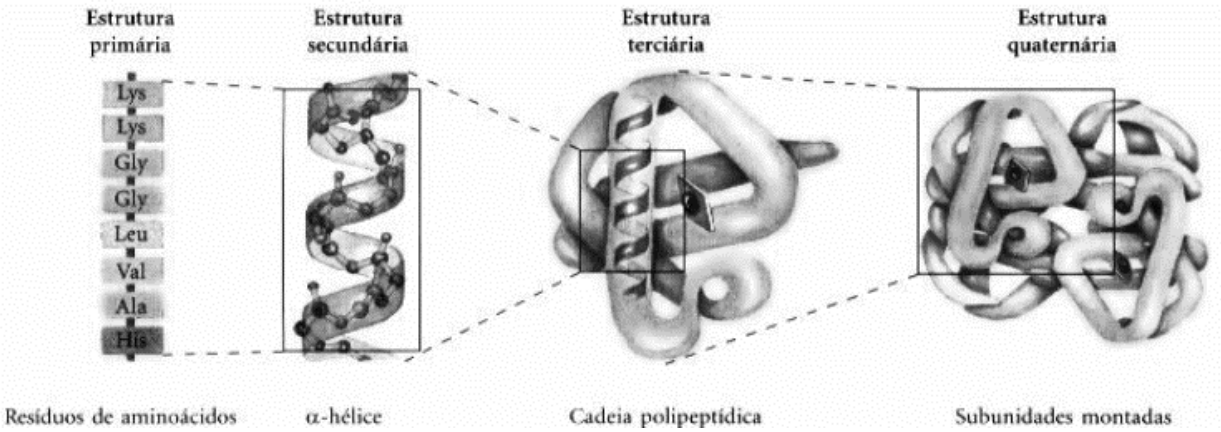


Figura 4: Comparativo estruturas proteicas (In: LEHNINGER, 2010, et al.)

5. METODOLOGIAS

5.1. MÉTODO DE KJELDAHL

A determinação do nitrogênio total (NT) proposta por Kjeldahl em 1883, ainda é muito usada por ser uma técnica confiável, com rotinas bem estabelecidas e ao longo do tempo permaneceu praticamente a mesma com poucas modificações. Esta técnica possibilita a determinação indireta de proteínas em várias amostras biológicas, assim como o nitrogênio em plantas para a avaliação do estado nutricional, levando em consideração o miliequivalente grama do nitrogênio contido em uma determinada amostra (GALVANI, GAERTNER, 2006).

A amostra é aquecida com ácido sulfurico para a digestão até que o carbono e o hidrogênio sejam oxidados. O nitrogênio da proteína é reduzido e transformado em sulfato de amônia. Logo em seguida será adicionado NaOH concentrado e aquecido para liberação da amônia dentro de um volume conhecido de uma solução de ácido bórico, formando borato de amônia. Esta solução será dosada com uma solução de HCl padronizada por titulação.

A primeira etapa é a digestão da amostra. Evidencia-se que além dos agrupamentos proteicos, existe o nitrogênio sob a forma de amina, amida e nitrila, que é transformado em amônia (NH_3) a qual reage com o H_2SO_4, formando o sulfato de amônio ($(NH_4)_2SO_4$) (GALVANI, GAERTNER, 2006).

Após a digestão inicia-se o processo de destilação que pode ser feita por aquecimento direto ou por arraste de vapor. O sulfato de amônio é tratado com hidróxido de sódio (NaOH), em excesso, ocorrendo a liberação de amônia (GALVANI, GAERTNER, 2006).

Sendo assim na última etapa, a titulação, o borato de amônio é titulado com uma solução padrão de ácido clorídrico (HCl) de título conhecido até a viragem do indicador.

5.2. MÉTODO DE BIURETO

ALMEIDA et al. (2013), evidencia que uma reação geral que caracteriza ligações peptídicas é chamada reação de biureto, nome dado à estrutura originada a partir da decomposição da ureia, quando esta é submetida a uma temperatura de aproximadamente 180ºC que fornece resultado positivo nesse teste. Método este que tem sido aplicado para determinar a concentração de proteínas totais em diversos meios como soro, urina, alimentos. Apesar de ser razoavelmente rápido, utilizar reagentes de baixo custo e não apresentar grande variação da absortividade específica para diferentes proteínas, esse método apresenta a desvantagem de baixa sensibilidade, pois os métodos que envolvem a reação de biureto requerem alta concentração de proteína na amostra, tornando-o desvantajoso quando comparado a outros métodos existentes. A figura 6 a seguir mostra a formação do Biureto:

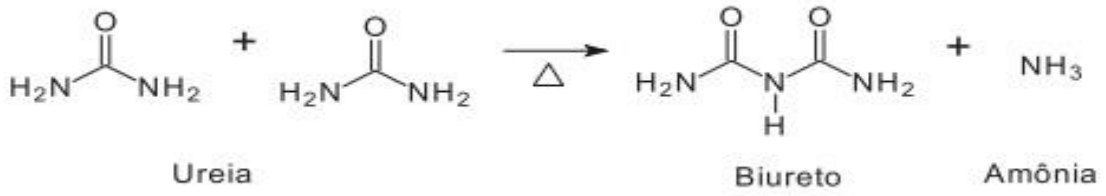


Figura 5: Reação de formação do Biureto <http://www.fcfar.unesp.br/alimentos/bioquimica/praticas_proteinas/reacoes_coradasdois3.htm> acesso em: 18 Nov. 2015.

O procedimento baseia-se na separação de tubos de ensaio contento as amostras que serão analisadas seguida pela adição gota a gota do reagente biureto e por fim observar e anotar os resultados. O aparecimento de coloração violeta indica que os íons Cu^{2+} provenientes do $CuSO_4$ formaram complexo com ligações peptídicas presentes na amostra, indica que se trata de uma proteína ou peptídeo (SOUZA, K.A.F.D.; NEVES, V.A, 2011).

5.3. MÉTODO DE LOWRY

O método de Lowry para determinação de proteínas, é constituído por duas reações. A primeira delas é a de redução do íon cobre, em condições alcalinas, formando um complexo com as ligações peptídicas, o íon de cobre monovalente conjuntamente às cadeias laterais de alguns aminoácidos da proteína (tirosina, triptofano, cisteína, asparagina e histidina) levam à redução dos componentes ácidos presentes no reagente de Folin amplificando a coloração primeiramente obtida, sendo assim, as amostras com tons de azul mais fortes devem conter maior concentração de proteínas. A concentração de proteína, nesse método, é calculada a partir da leitura da absorbância ou quantidade de luz absorvida, que é medida por um espectrofotômetro (AGOSTINI, 2015).

Os princípios e métodos de determinação de proteína bruta por Kjeldahl de 1883, ainda permanecem praticamente os mesmos. Esse método é utilizado em quase todos os laboratórios, na qual permite a determinação indireta da proteína bruta em várias amostras biológicas, assim como a determinação do nitrogênio presente na solução resultante por diluição de arraste à vapor e teor de nitrogênio em plantas para avaliação nutricional. O método baseia–se na decomposição de matéria orgânica através de digestão da amostra à aproximadamente 400º C com ácido sulfúrico concentrado e na presença de sulfato de cobre como catalisador que acelera a oxidação da matéria orgânica (GALVANI; GAERTNER, 2006).

Segundo Bin (2011), “Proteína Bruta envolve um grupo de substâncias que tem como estrutura fundamental o aminoácido”, inclusive por não terem propriedades físicas e químicas iguais, solubilidade, reatividade, ponto de fusão e ponto de ebulição, as características não podem tomar como base para uma análise quantitativa mas apresentam em comum o agrupamento amina (-NH). Os processos de determinação da proteína, como discorre, seguem basicamente as etapas de digestão, destilação, neutralização e titulação. A figura 7 a seguir dá uma visão melhor ilustrada do método de Lowry:

Figura 6: Organograma do método de Lowry. Disponível em:< http://aws.labome.com/figure/te-115-3-pt.png> acesso em: 18 Out. 2016.

6. MATERIAIS E MÉTODOS

6.1. MATERIAIS, EQUIPAMENTOS E VIDRARIAS

a) Estufa de ar forçado (MA 035 TECNALITE)
b) Bloco Digestor
c) Capela para exaustão de gases
d) Tubos de digestão de micro Kjeldahl
e) Digestor de Nitrogênio (TE 0363 TECNAL) e (TE 036/1 TECNAL)
f) Digestor de Gorduras (TE 044 TECNAL)
g) Pipeta de 10mL e pipeta de 5mL
h) Erlenmeyer de 250mL
i) Bureta de 25mL ou 50mL
j) Balança Analítica
k) Espátula
l) Agitador Magnético
m) Frascos dosadores de reagentes (béquer e tubos de ensaio)
n) Papel impermeável
o) Pinças e estantes de madeira

6.2. REAGENTES E SOLUÇÕES

a) Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) concentrado (d=1,84) P.A. – 10 mL.
b) H_2SO_4 0,02M padronizado
c) Solução catalítica de K_2SO_4 + $CuSO_4$ – ponta de espátula (proporção de 10:1)
d) Ácido clorídrico (HCl) 0,1M
e) Solução alcoólica de verde de bromocresol, a 0,1% (m/v) – Indicador Misto (3 gotas)
f) Solução alcoólica de vermelho de metila a 0,1% (m/v) – Indicador Misto (5 gotas)
g) Solução de ácido bórico (H_3BO_3) 2% m/v
h) NaOH a 50% m/v
i) Éter de petróleo P.A

6.3. AMOSTRAS

As amostras das parcelas foram coletadas, processadas e quantificadas pelo método de micro Kjeldahl. A identificação das espécies de *Brachiaria* foram efetuadas com base na morfologia, fisiologia e taxonomia do padrão da planta e da região de potencial hidrométrico sedimentar propício.

Foram coletadas duas amostras na cidade de Ourinhos-SP e uma amostra na cidade de Platina-SP, contendo em massa, 1,646 kg a primeira e 1,605 kg na segunda coleta realizada na cidade de Ourinhos-SP às adjacências do rio pardo. Já na cidade de Platina-SP, foi realizada uma coleta na Fazenda Platina constando em massa de 1,512 kg. Contudo deve-se informar que as coletas após a homogeneização foram utilizadas para fins quantitativos apenas 16,08 g que seria considerado como base volumosa de gramínea. Ainda foram realizadas as coletas no período de junho e julho de 2016, onde as temperaturas compreenderam entre 03-21ºC, a poda foi realizada da planta *in natura* na altura de 15 a 20 cm de desbaste em relação ao solo, com o cuidado de reproduzir a porção comestível pelo animal. Entretanto, o fenótipo revelado apresentou-se bem similar, levando-se em consideração à questão da temperatura, na qual fora identificado algumas folhas queimadas de geada e ventos fortes na região.

Essas foram pré secadas em secadora de ar forçado no laboratório do CEPECI-FEMA, por um período de aproximadamente 100 horas ininterruptas à uma temperatura de 40ºC, levando-se em consideração a temperatura ótima da planta (21-44ºC). Ainda é de igual importância lembrar, que antes da análise descrita, foi realizada uma pré secagem à 40º C em estufa com circulação de ar forçado por aproximadamente 100 horas ininterruptas, e submetido à maceração do produto seco à peneira de 100 Mesh. (NICASTRO, 2014).

Para a comparação do teor de proteína bruta foram utilizados os resultados de um levantamento bromatológico do AGROLAB Laboratório de Análises Agropecuária LTDA – ME do Município de Assis/SP e coletado nas Fazendas Nossa Senhora do Pilar do Município de Sagres/SP e Fazenda Platina/SP, ainda da Fazenda Santa Terezinha e Fazenda Arauto Condomínio I ambas do Município de Campo Grande/MS, ressalta-se ainda que as amostras foram coletadas nos períodos de 2013, 2014, 2015 e 2016.

6.4. PROCEDIMENTOS

Os desenvolvimentos das análises foram exatamente como se segue:

Primeiramente foi feita pesagem em balança analítica de 0,5g de matéria orgânica seca e adição da mistura catalítica. A digestão da amostra foi feita em um tubo de micro Kjeldahl por adição de 10 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4). Foi adicionado também 1g de mistura catalítica composta por sulfato de potássio (K_2SO_4) e sulfato de cobre ($CuSO_4$) na proporção de 10:1 para acelerar o processo de oxidação da matéria orgânica, aumentando o ponto de ebulição de 337º para 400ºC. O aquecimento da amostra com ácido sulfúrico é utilizado para digestão, de modo que o C e H sejam oxidados e o N da proteína seja reduzido, sendo transformado em sulfato de amônio [$(NH_4)_2SO_4$] conforme as seguintes reações (BIN 2011):

$$\text{Matéria Orgânica} \xrightarrow[\Delta]{H_2SO_4} SO_{2\,(g)} + CO_{2\,(g)} + H_2O_{(l)} + R - NH$$

$$R - NH + H_2O_{(l)} \xrightarrow[\Delta]{H_2SO_4} R - OH + NH_{3\,(aq)}$$

$$R - \overset{\overset{\displaystyle O}{//}}{C}{}^{\diagdown}_{\diagup}NH_2 + H_2O_{(l)} \xrightarrow[\Delta]{[H^+]} R - \overset{\overset{\displaystyle O}{//}}{C}{}^{\diagdown}_{\diagup}OH + NH_{3\,(aq)}$$

$$2\,NH_{3\,(aq)} + H_2SO_{4\,(aq)} \longrightarrow (NH_4)_2SO_{4\,(aq)}$$

O processo de digestão foi realizado em bloco digestor com duração de 3 a 4 horas, até que a matéria orgânica passe de uma coloração marrom escuro para esverdeado, devido o carbono contido na matéria orgânica ser oxidado e o dióxido de carbono (CO_2) se desprenda. Além dos agrupamentos proteicos, existe o nitrogênio sob a forma de amina, amida e nitrila, que é transformado em amônia (NH_3) a qual reage com o H_2SO_4, formando o sulfato de amônio ($(NH_4)_2SO_4$) conforme mostrado nas reações acima.

6.4.1 NEUTRALIZAÇÃO

Nesse passo foi adicionado 30mL de NaOH 50% m/v (concentração em percentual massa-volume). A adição feita lentamente até a solução do tubo ficar “negra” ou escurecida na qual esse processo garante um ligeiro excesso da base.

Em seguida ligou-se o digestor de nitrogênio para a liberação da amônia dentro de um volume conhecido de solução de 35 mL(s) de ácido bórico (H_3BO_3) 2% de volume conhecido e 3 gotas de indicador misto formando borato de amônia (NH_3BO_3).

Nessa etapa o sulfato de amônio é tratado com hidróxido de sódio (NaOH), em excesso, e libera amônia. As reações a seguir mostram o processo:

$$(NH_4)_2SO_{4\,(aq)} + 2\,NaOH_{(aq)} \xrightarrow[\Delta]{} 2\,NH_4OH_{(aq)} + Na_2SO_{4\,(aq)}$$

$$NH_4OH_{(aq)} \xrightarrow[\Delta]{} NH_{3\,(aq)} + H_2O_{(l)}$$

6.4.2. DESTILAÇÃO

O ponto final da destilação ocorreu quando a solução do Erlenmeyer passou de rósea para verde. Em seguida, foi coletado 2mL do destilado para garantir que toda a amônia que desprende na reação. Salienta-se que foi em um Erlenmeyer de 250mL e foi adicionado 35mL de ácido bórico (H_3BO_3) com o indicador misto, previamente adaptado ao conjunto da destilação, resultando em 115mL de material destilado ao final do procedimento.

Haja vista terminado o processo, quando toda a amônia se desprendeu, formou o borato de amônio ($NH_4H_2BO_3$), como na seguinte reação:

$$H_3BO_{3\,(aq)} + NH_{3\,(aq)} \longrightarrow NH_4H_2BO_{3\,(aq)}$$

6.4.3. TITULAÇÃO

Esta foi a última etapa do processo. O borato de amônio ($NH_4H_2BO_3$) foi titulado com uma solução padrão de ácido clorídrico (HCl) 0,1M até que a solução do Erlenmeyer ocorresse a viragem do indicador de verde para rósea, conforme a reação:

$$NH_4H_2BO_{3\,(aq)} + HCl_{(aq)} \longrightarrow H_3BO_{3\,(aq)} + NH_4CL_{(aq)}$$

É de ser levado em consideração que indicadores mistos usados na elucidação do teor de proteínas, geralmente são misturas dos indicadores verde de bromocresol com vermelho de metila ou azul de metileno com vermelho de metila para que essa faixa de pH seja melhor observada. No mesmo sentido, neste trabalho, foi utilizado indicadores de cor vermelho de metila (5 gotas) e verde de bromocresol (3 gotas). A partir desta análise por um fator geral que é obtido com base no fato de que, na maioria das proteínas, o teor de N é em torno de 16%. Então:

100 g proteínas ----------16g N

X g proteínas ---------- *n* g N

$$X = \frac{n \times 100}{16} = n \times 6{,}25 \text{ g proteínas}$$

Fator geral de conversão do N em proteínas é **6,25**.

Os cálculos levados em consideração serão:

$$\text{Proteína total (\% de Nitrogênio total)} = \frac{V \times N \times f \times 0{,}014 \times 6{,}25 \times 100}{P(g)}$$

$$\text{Proteína total (\% de Nitrogênio total)} = \frac{V \times N \times f \times 0{,}08755 \times 100}{P(g)}$$

% de protídeos = % de Nitrogênio total * F

Onde:

V = volume em mL de HCl 0,1M gasto na titulação

N = Normalidade do HCl 0,1M

f = Fator de conversão do HCl 0,1M

0,014 = miliequivalente grama do nitrogênio

6,25 = (F) = fator de conversão geral do nitrogênio em proteína de acordo com o produto

P(g) = peso da amostra em gramas (foram utilizados sempre em torno de 0,5g em balança analítica de precisão).

7. MACROMOLÉCULAS IMPORTANTES NA PRODUÇÃO DA RAÇÃO

Os tecidos animais, além de biomoléculas, possuem elementos inorgânicos, ditos minerais que fazem parte de 2 a 5% do peso total dos animais (GONZÀLEZ, 2009).

Assim sendo, para um produto final balanceado é necessária a adição de complementos de minerais específicos necessários à alimentação do ruminante, como cálcio, enxofre, magnésio e potássio, assim como é feito hoje pela indústria nos demais produtos destinados a este nicho.

Portanto conforme a necessária adição, o primeiro composto mineral a ser revelado é o potássio. E pode-se afirmar ainda resumidamente que as principais funções do potássio são: regular o balanço osmótico da célula, uma base disponível para a neutralização de ácidos, ativa diversos sistemas enzimáticos, e controla o balanço de água no organismo (NETO et. al, 2010).

Outro macro mineral, que merece total atenção na suplementação é o cálcio. Devido ter sua função metabólica bem definida como: mineralização óssea, coagulação sanguínea, contração muscular e transmissão de impulsos nervosos (GONZÀLEZ, 2009).

A hipocalcemia é frequente em vacas leiteiras de altas produção, podendo causar febre do leite ou paresia do parto, o cálcio total em uma vaca adulta está em torno de 6000g dos quais 90% estão armazenados nos ossos (GONZÀLEZ, 2009). Qualquer alteração na absorção do cálcio pelo intestino do animal e a mobilização óssea do Ca (cálcio), pode ser fatal.

O magnésio, mineral de igual importância, não tem controle homeostático, portanto a concentração sanguínea reflete diretamente o nível da dieta. A hipomagnesia pode causar morte ao animal, já a hipermagnesia não apresenta sérios riscos, este é absorvido também no intestino por transporte ativo e pode ser interferido pela relação Na:K (sódio: potássio) e ainda pelas concentrações de Ca e P (cálcio e potássio) (GONZÀLEZ, 2009).

Dentre os principais sintomas da deficiência de magnésio pode-se apontar: tetania, hiperexcitabilidade, retenção de placenta, anomalia da digestão ruminal e em leiteiras, diminuição da produção do leite (GONZÀLEZ, 2009).

Por sua vez, o enxofre, é de necessária atenção tanto no excesso quanto na sua falta. O macro mineral quando em excesso pode dificultar a absorção de cobre pelo sistema

metabólico do animal, mas por outro lado, tem função definida e muito importante como: componente de aminoácidos sulfurados, componente de biotina e timina, componente de mucopolissacarídeos e principalmente reações de desintoxicação (GONZÀLEZ, 2009). Diante da deficiência comprovada de minerais, é necessária adição e sua utilização na neutralização tamponante do rumem.

A adição de tamponantes pode afetar positivamente o consumo de matéria seca (gado de corte) e o teor de gordura no leite (gado leiteiro). O calor e a umidade podem deprimir a ingestão de forragem reduzindo o teor de fibra fisicamente ativa na dieta e a produção natural de tampões salivares. Assim o animal depressa em peso e desenvolvimento muscular, alterando assim os produtos fins para que seriam projetados (PEREIRA, 1999).

No Brasil estima-se que aproximadamente exista 500 empresas destinadas a produção de suplemento animal neste nicho. Algumas dessas empresas são associadas à Associação Brasileira das Indústrias de Suplemento Minerais – ASBRAM, que são por sua vez ligadas às SINDIRAÇÕES (Sindicato Nacional da Industria de Alimentação Animal) (SEVILLA et al., 2016).

Estima-se para um consumo máximo de Ca, Mg, S e K expressos em g/dia para os níveis de 47,0; 45,3; 40,0; 51,8% de volumoso na dieta, respectivamente (CARVAHO, 1997).

Em suma, portanto, leva-se em consideração esses valores à amostra de forragem pura.

Conforme pesagem do produto volumoso e as porcentagens necessárias para a ingestão diária do animal, realiza-se as pesagens de matérias minerais para a homogeneização do produto final, obtendo os seguintes sais e concentrações:

16,08g = 100% da amostra volumosa de forragem.

Conforme indica a literatura os minerais são calculados em cima das porcentagens de matéria volumosa de acordo como se segue:

a) Para o Ca: 16,08g – 100%

   Xg – 47%

b) Para o S: 16,08g – 100%

   Yg – 40%

c) Para o Mg: 16,08g – 100%

   Zg – 45,3%

d) Para o K: 16,08g – 100%

Wg – 51,8%

Ca=7,55g; S=6,43g; Mg=7,28g; K=8,32g – Total 29,58g (minerais) + 16,08g (matéria orgânica) = 45,66g.

É de importância salutar, que as adições devem ser feitas na forma de sais inorgânicos e/ou orgânicos pois assim facilita a absorção, atividade enzimática e adaptação do animal ao alimento, sendo assim, foram verificados os sais mais utilizados no mercado atual para este fim e chegou-se a seguinte configuração:

a) Carbonato de cálcio – 7,55g
b) Sulfato de ferro – 6,43g
c) Óxido de magnésio – 7,28g
d) Cloreto de potássio – 8,32g

8. FATORES INTERFERENTES NAS ANÁLISES

8.1. SOLO

Ainda no que concerne aos fatores influenciadores do teor de proteína deve-se considerar a composição química do solo (N, P, K), disponibilidade hídrica, o fator cultivar (perenidade/brotamento), adubação (existente/inexistente) e as formas de coleta para análise das amostras da matéria orgânica (porção comestível pelo animal).

Contudo, a questão da velocidade de digestão e absorção não faz diferença em termos de efetividade muscular. Aparentemente, o fator primário que determina a efetividade de uma fonte proteica é o teor de proteína, aminoácidos essenciais e leucina ingerido por dose. A dose escolhida para o produto misto em questão deve ser levada em consideração pelo mesmo teor de aminoácidos essenciais e leucina fornecidos pela proteína do soro do leite (NICASTRO,2014).

8.2. ÁGUA

Os efeitos do potencial hídrico sobre as forrageiras são bastante variáveis. As restrições hídricas mais severas promovem interrupção do crescimento e morte da parte aérea da planta acarretando na produção de animal de corte e de leite uma limitação, tanto em razão da baixa qualidade quanto da disponibilidade da forragem. Por outro lado, diminuições hídricas suaves, reduzem a velocidade de crescimento das plantas, retardando a formação de caules e partes não fibrosas resultando em plantas com maiores proporções de folhas e conteúdo de nutrientes potencialmente mais digestíveis (REIS, R. A.; RODRIGUES, L. R. A, 1993).

8.3. TEMPERATURA

As temperaturas junto com o fator solo, em geral têm sua maior parcela na influência da qualidade da forragem, onde apresentam crescimento mais eficaz na faixa de 24/33ºC, em clima tropical como o Brasil (adaptado de BALL et al., 1991).

É de conhecimento comum que as maiores taxas de alongamento de colmo (tipo de caule) ocorrem quando as temperaturas máximas e mínimas atingem 33/28ºC nas condições de primavera e verão; e 27/22ºC nas condições de outono, respectivamente (FERRARIS et al.,1986). Ainda se percebe menor alongamento foliar quando plantas mais novas ficam expostas a temperaturas menores que 16 ºC. Em temperaturas abaixo de 22ºC grande parte das gramíneas tropicais reduzem significativamente o crescimento, mesmo quando a radiação solar não é fator limitante. VAN SOEST (1994), verificou que elevadas temperaturas, características marcantes das condições tropicais, promovem rápida lignificação da parede celular, acelerando a atividade metabólica das células, o que resulta em decréscimo do “pool de metabólitos” (troca metabólica) no conteúdo celular, além de promover a rápida conversão dos produtos fotossintéticos em componentes da parede celular.

8.4. PLANTA

A fotossíntese pode ser descrita como um processo físico-químico, na qual os organismos fotossintéticos sintetizam compostos orgânicos a partir de matéria inorgânica, na presença de luz oriunda do sol (LARCHER,1975).

Essa captação depende da posição do sol, geometria e tamanho foliar, ângulo de captação, idade da planta, arranjo das plantas; além de época do ano e nebulosidade, espécie cultivada e práticas de manejo na cultura (VARLET-GRANCHER et al.,1989).

A luminosidade tem influência direta na fotossíntese que por sua vez promove elevação nos teores de açucares solúveis, aminoácidos e ácidos orgânicos aumentando ainda a digestibilidade (HEATH et al., 1985).

Outro estudo, feito em sistema de pastejo, na *Brachiaria brizantha* em relação ao seu crescimento em função à síntese nutricional e a relação da planta folha-colmo em diferentes estações do ano com incidências solares diferentes, apresentada na figura a seguir (SANTOS, Gilmar O.; FARIA, Rogério de; SOUZA, Anderson de; RODRIGUES, Gilberto A., 2014).

Há de se elucidar, que assim também ocorre com as espécies forrageiras que são encontradas, sendo utilizadas no manejo pastoril de gado de corte ou de produção de leite. Ainda apresentam variações qualitativas bem distintas no que tange ao produto de matéria orgânica bruta seca, crescimento foliar e digestibilidade de matéria orgânica.

A ecofisiologia assim como a aceitação do animal também é salutar. Conforme o quadro abaixo representativo (SANTOS, Nailson Lima; AZENHA, Mariana Vieira; SOUZA, Fernando Henrique Meneguello de; REIS, Ricardo Andrade et. al., 2011):

Figura 7: Ciclo dos fatores que interferem no desempenho de animais mantidos em um ecossistema pastoril e consequente alteração proteica (Fonte: REIS et al., 2005).

9. A DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA NO CONTEXTO DO ENSINO MÉDIO E SUAS APLICABILIDADES

A educação não se trata de domesticação, mas sim para libertar e oferecer autonomia e não subserviência. Concomitantemente segundo o Plano Pedagógico Curricular do Estado de São Paulo (2014), no ensino médio, o aluno deve ganhar a compreensão dos processos químicos em estreita relação com suas aplicações tecnológicas, de modo a poder tomar decisões de modo crítico em nível individual ou coletivo. Para que isso torne-se realidade os objetivos formativos devem ser organizados de forma que possam superar o ensino da Química frequentemente baseado na transmissão de informações ou na aprendizagem mecânica de leis isoladas.

Os conteúdos programáticos propostos para a 3ª série do ensino médio são: Atmosfera, Hidrosfera e Biosfera como fontes de materiais para uso humano, do componente Química Orgânica. Onde é construído conhecimentos de processos de obtenção de materiais a partir da atmosfera, como o oxigênio, os gases nobres e o nitrogênio, entendendo especialmente a produção de materiais a partir do nitrogênio, tais como a amônia, nitratos, nitritos etc.; entendendo a importância de estruturas nitrogenadas e a obtenção de materiais a partir da Biosfera, produção de alimentos e o equilíbrio destes sistemas.

Ainda segundo o Currículo do Estado de São Paulo (2014), é sabido que o conteúdo a ser abordado no ensino médio é feito de maneira espiral, o nitrogênio como matéria prima para produzir alguns materiais, além de desenvolver processos químicos em sistemas naturais e produtivos que utilizem nitrogênio – avaliação de produção, consumo e utilização social.

Em consonância de recursos vegetais para a sobrevivência humana, tais como, carboidratos, lipídios e vitaminas; recursos animais para a sobrevivência – proteínas e lipídios; a identificação de arranjos atômicos e moleculares com o intuito de explicar a formação de cadeias, ligações, funções orgânicas e isomeria; os componentes principais dos alimentos (carboidratos, lipídios e proteínas), suas propriedades e funções no organismo.

Assim é de ser revelado a importância do seguinte trabalho, como forma de elucidar conceitos à priori básicos mas de suma importância na formação do ensino médio, contemplado na 3ª série do ensino médio em Química Orgânica.

Pode–se então entender a grande contribuição da identificação de proteínas em diferentes tipos de alimentos, e dada tal importância este trabalho propõe a seguir uma prática laboratorial muito intuitiva, bem simples, que pode ser executada em microescala, laboratórios convencionais de comum acesso da rede particular e pública principalmente.

9.1. PRÁTICA DE ENSINO NO ENSINO MÉDIO – TESTE DE PROTEÍNAS

Experiência número 28, do livro EXPERIMENTOS DE QUÍMICA EM MICROESCALA – QUÍMICA ORGÂNICA. Pelo professor Roque Cruz do Departamento de Tecnologia para o Ensino – ASSETA – Faculdades de Tatuí.

9.1.1. Introdução:

As proteínas são um dos componentes químicos mais importantes do ponto de vista estrutural para as células, pois estão presentes em todas as partes do organismo, no seu funcionamento ou ainda no controle das reações químicas dependente das enzimas que por sua vez são moléculas de proteínas (SILVA, 2016).

O reativo do experimento chama-se reagente de Biureto que é o nome dado à estrutura originariamente obtida através da reação de decomposição da ureia, quando essa é submetida a uma temperatura de, aproximadamente, 180ºC:

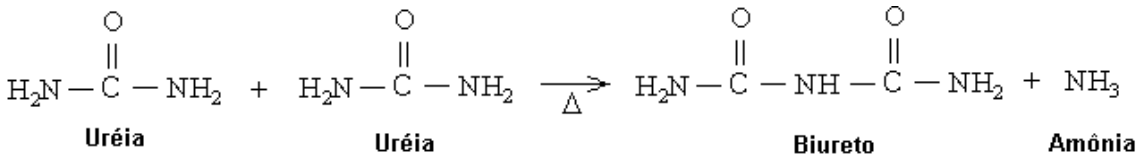


Figura 8: Formação do reagente de Biureto (Azul) <http://www.fcfar.unesp.br/alimentos/bioquimica/praticas_proteinas/reacoes_coradasdois3.htm> acesso em: 18 Nov. 2015.

Soluções alcalinas que contenham Biureto desenvolvem essa coloração violeta, quando em presença de sulfato de cobre ($CuSO_4$), fenômeno esse que deve-se à formação de

um complexo mais especificamente entre o íon cúpricos Cu^{2+} e os átomos de nitrogênio presentes na molécula do Biureto.

9.1.2 Objetivo: Identificar a quantidade de proteínas presentes em diversos alimentos.

9.2 Material utilizado:

a) Placa de reações, ou cadinho
b) Baqueta
c) Tubo de ensaio
d) Micropipeta, pipeta Pasteur ou pipeta volumétrica

9.2.1. Reagentes:

a) Solução de Sulfato de Cobre ($CuSO_4$) 0,1M
b) Solução de NaOH 1M

9.2.2. Metodologia:

Prepare as células de acordo com a tabela:

	1	2	3	4	5
A	**5 gotas de clara de ovo**	**Carne moída**	**Arroz**	**Feijão**	**Batata**

Figura 9: Células de matéria orgânica de proteínas comuns.

a) As amostras sólidas devem ser maceradas com antecedência, após a maceração adicione 10 gotas de água em cada célula. Agite – as bem para diluir as substâncias a serem analisadas.
b) Adicione 5 gotas de NaOH 1M e 5 gotas de $CuSO_4$ 0,1M em cada célula. Agite o tubo e observe a coloração adquirida.

10. RESULTADOS E DISCUSSÕES (ENSINO MÉDIO)

No experimento o hidróxido de sódio não participa na reação, mas meramente provê um meio alcalino na qual a reação possa ocorrer afim de que se possa obter o reagente em questão.

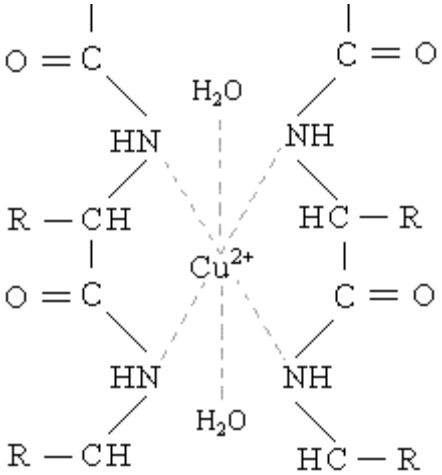


Figura 10: Interação ligação peptídica / Cu2+ (complexo de Biureto) <http://www.fcfar.unesp.br/alimentos/bioquimica/praticas_proteinas/reacoes_coradasdois3.htm> acesso em: 18 Nov. 2015.

Ao adicionar em um tubo de ensaio 5 gotas de Hidróxido de Sódio (NaOH) 1M e 5 gotas de Sulfato de Cobre ($CuSO_4$) 0,1% obtém o reagente incialmente azul que estabelece interações com os átomos de nitrogênio da cadeia peptídica obtendo a coloração violeta.

A seguir na figura 11 pode-se verificar o material utilizado na experiência:

Figura 11: Material utilizado na prática do Ensino Médio

A seguir pode-se evidenciar como as amostras foram separadas para a análise, conforme a figura 12.

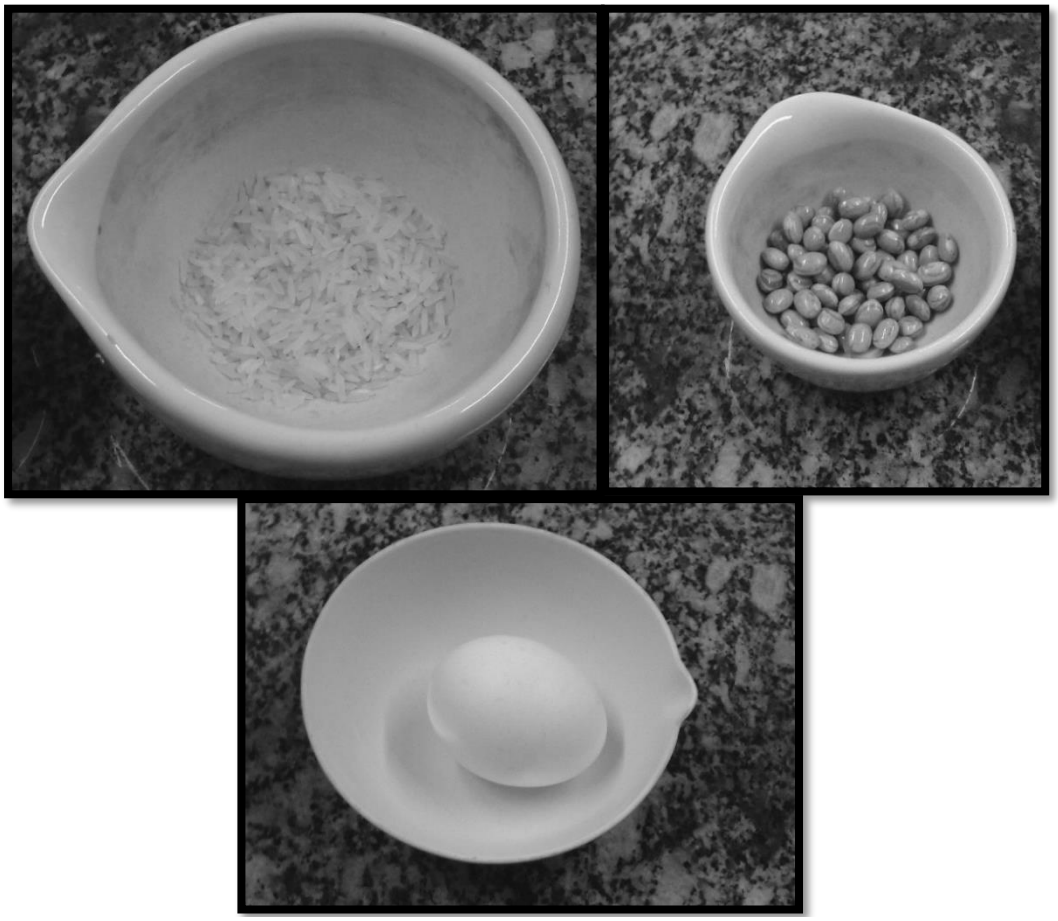


Figura 12: Amostras separadas - Arroz - amostra (A); Feijão - amostra (B); Ovo Branco - amostra (C)

Apresenta-se ainda em seguida as amostras sólidas já maceradas e a ovo albumina, clara do ovo, já devidamente separada, preparada para inserção no tubo de ensaio que ocorrerá a análise, conforme a figura 13.

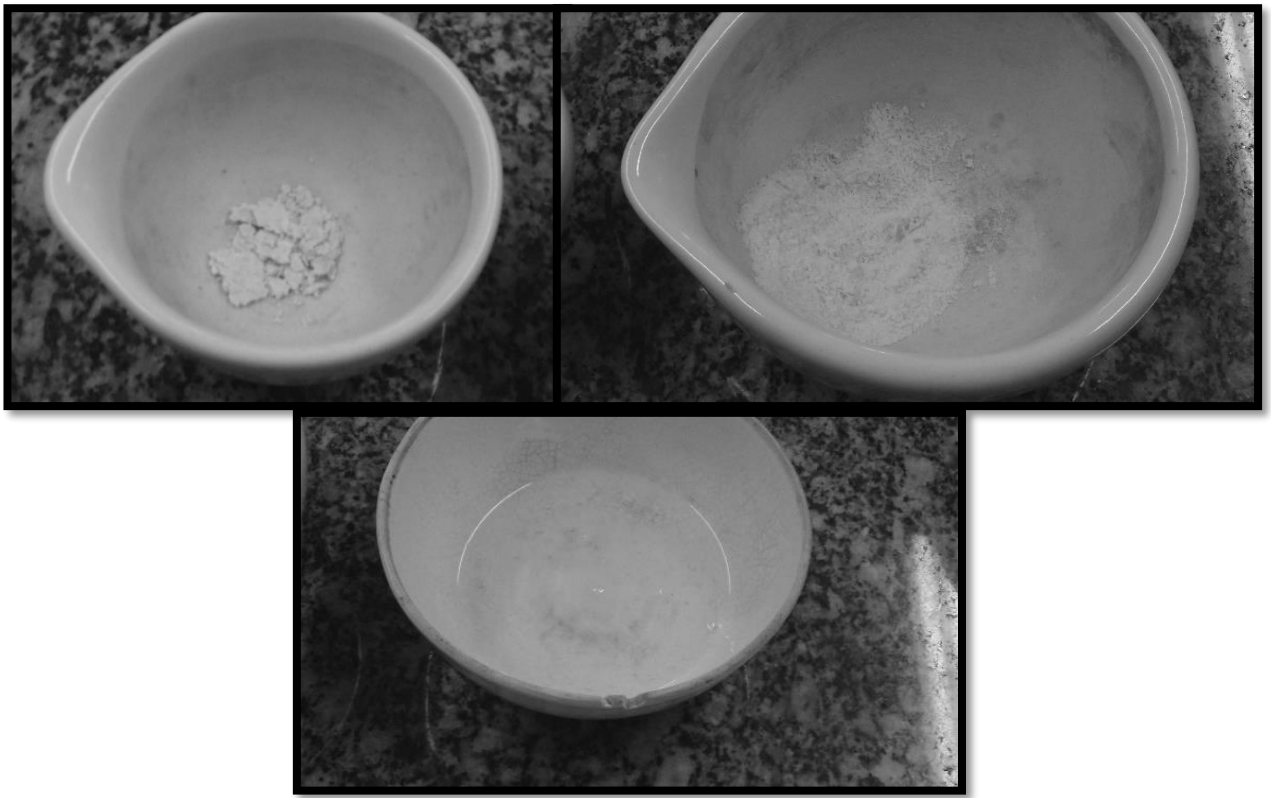


Figura 13: Amostras prontas para a análise – Feijão (Esquerda); Arroz (Direita); Clara de ovo (Abaixo)

Em seguida há a inserção das amostras nos tubos de ensaio delimitados e com os reagentes é preparado o complexo de biureto para que se possa realizar os gotejamentos conforme o roteiro, essa etapa é apresentada conforme a figura 23 a seguir.

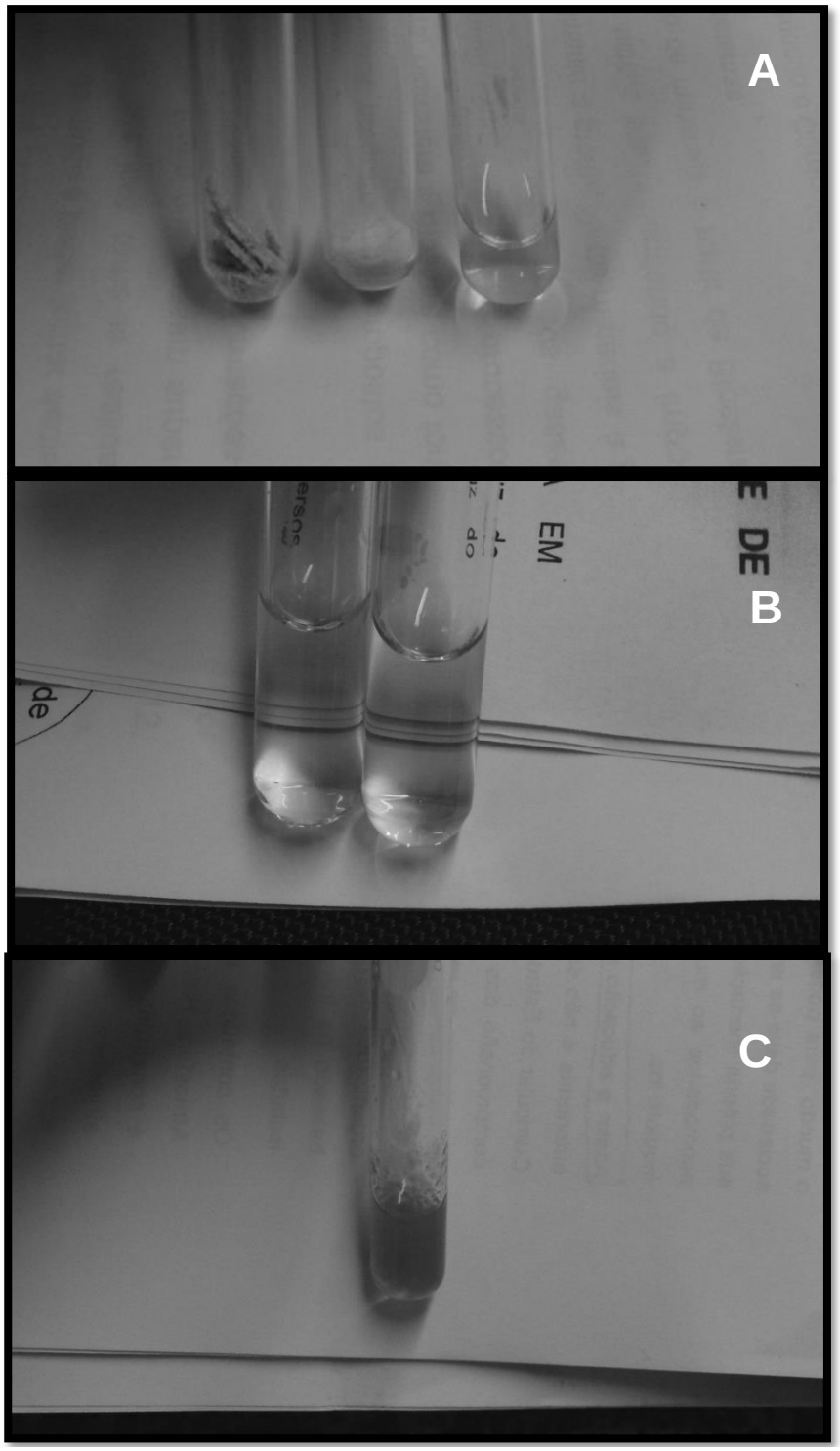


Figura 14: Tubos de ensaio com as amostras (A); Tubo 1 - Sulfato de Cobre e Tubo 2 - Hidróxido de Sódio (B); Tubo 3 - Reagente de Biureto $Cu(OH)_2$ (C)

A experiência traz ainda um conceito importante de tipos de reações químicas, a metátese, onde se tem dois reagentes, dois compostos, gerando dois produtos e comumente conhecida por reação de dupla troca. Neste caso em especial há a precipitação do $Cu(OH)_2$ conforme a equação a seguir:

$$\mathbf{CuSO_4 + 2\ NaOH \longrightarrow Cu(OH)_2 \downarrow + Na_2SO_4}$$

Assim sendo pode-se observar os alimentos utilizados foram preparados sem nenhum tipo de cozimento ou refoga, vale a pena salientar que quando colocado as primeiras gotas de hidróxido de sódio não se observou nenhuma alteração de cor, porém quando adicionado 5 gotas de sulfato de cobre, foi essencial para que as cores surgissem, assim as identificando.

A amostra (A) contendo o arroz devido a sua baixíssima expectativa de proteína, praticamente irrisória não houve alteração de coloração, apenas apresentando a coloração azul do reagente. Já por sua vez na amostra (B) contendo feijão, houve considerável identificação de proteína presente, ocorrendo alteração de cor do azul para o roxo levemente escuro. Contudo na amostra (C) contendo ovo albumina (clara de ovo), obteve-se a passagem da cor azul para um roxo intenso de aspecto.

Por fim pode-se evidenciar a eficácia do reagente de Biureto na identificação de proteínas em alimentos diversos, ainda elucidou de forma semelhante nas mesmas condições. Estas conclusões estão evidentes e apresentadas na figura 15 que segue.

Figura 15: Resultados proteicos da aplicação no ensino médio

11. RESULTADOS E DISCUSSÃO DAS ANÁLISES PROTEICAS

Para Zaia et al. (1998), vários fatores podem ser analisados antes da escolha da metodologia para determinação de proteína total, como sensibilidade, reprodutibilidade, simplicidade, poucas substâncias interferentes, disponibilidade de volume de amostra, rapidez, baixo custo, similaridade às concentrações ambientais e toxicidade do reagente.
Assim sendo diante destas análises foi revelado que as amostras na cidade de Ourinhos estão em consonância com os dados apresentados em outras regiões do país e do estado. Salvo alguns percentuais de reflexo de região e de manejo, na questão do cultivar e adubação, onde se tem uma determinada atenção no tratamento com a planta e da temperatura na época do ano.
Assim é possível verificar a planta e seu estado *in natura* na figura 16 a seguir.

Figura 16: *Brachiaria brizantha*, na cidade de Ourinhos-SP**.**

Já na figura 17 é evidenciada o preparo das amostras na pré secagem e homogeneização, conforme a seguir:

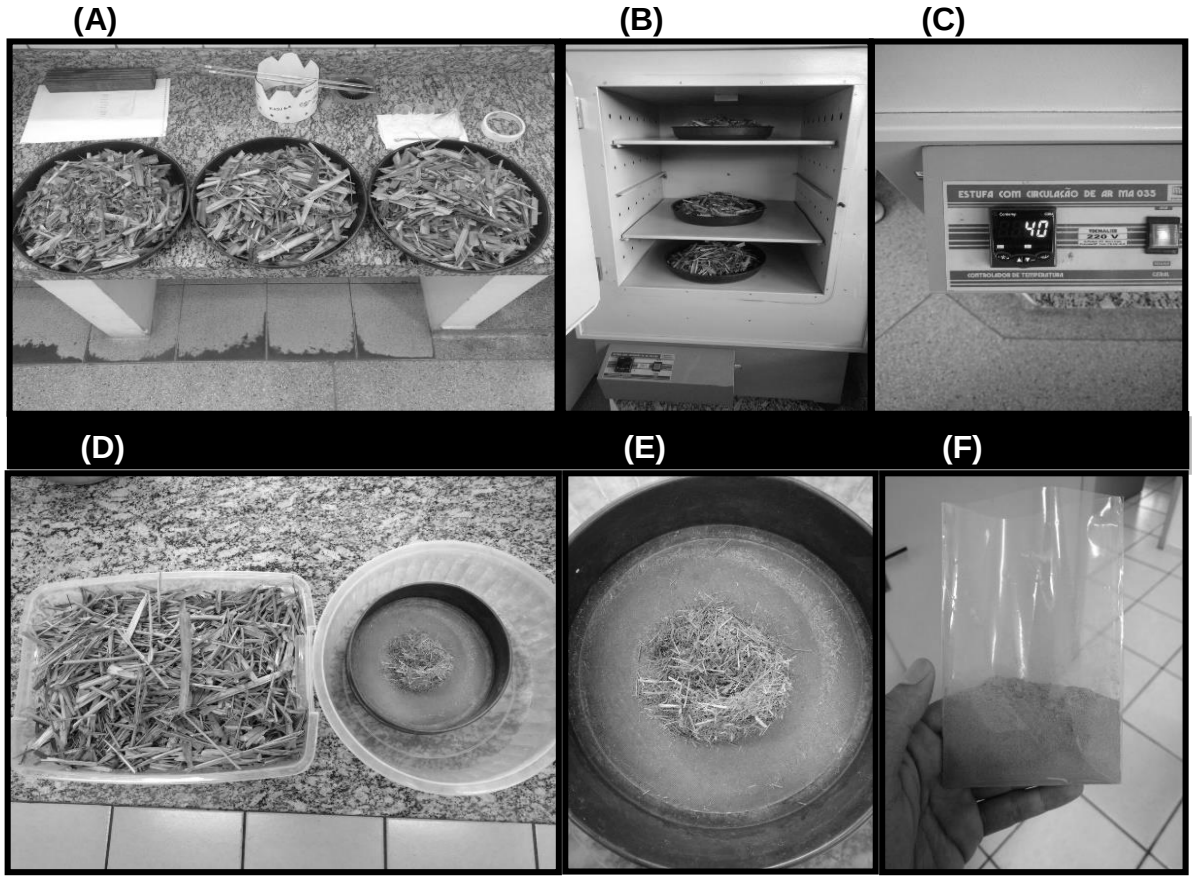


Figura 17: Preparo das amostras. **A)** Preparo para secagem. **B)** Estufa. **C)** Controle da estufa (40ºC). **D)** Preparo para maceração. **E)** Maceração (peneira de 100 Mesh). **F)** Amostra pronta para início das análises.

Na figura 18, pode-se verificar os preparos para início das análises e pesagens das matérias orgânicas homogeneizadas.

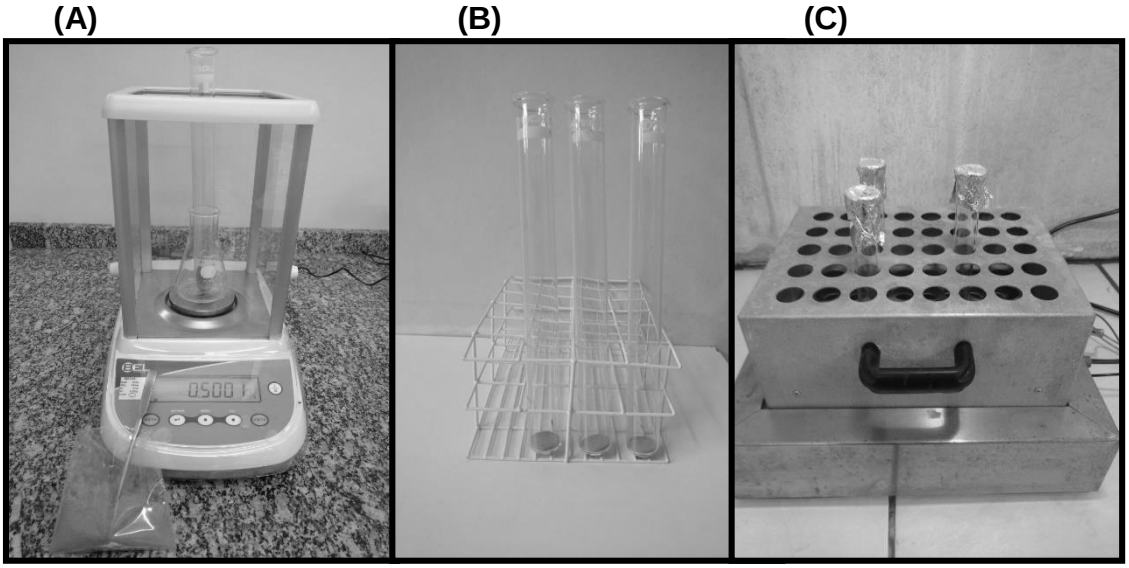


Figura 18: Análises. **A)** Pesagem. **B)** Triplicatas. **C)** Introdução ao Bloco Digestor.

Na figura 19 é mostrado as análises em andamento no digestor de nitrogênio, conforme a seguir:

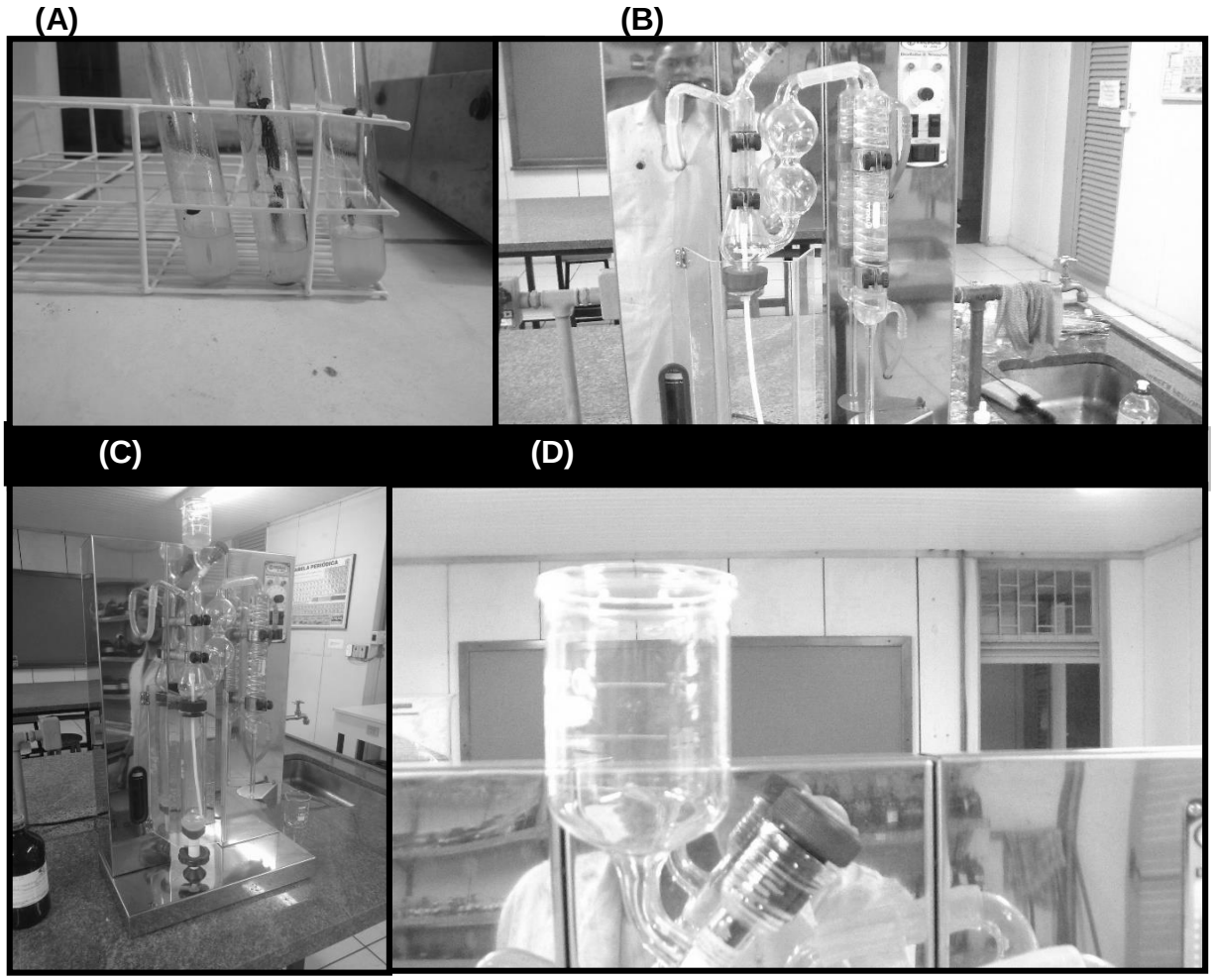


Figura 19: Análises. **A)** Final da digestão. **B)** Preparo da Caldeira. **C)** Neutralização em andamento. **D)** Recipiente de inserção da NaOH.

Na figura 20, evidencia-se o final da titulação e o ponto de viragem do indicador, como a seguir:

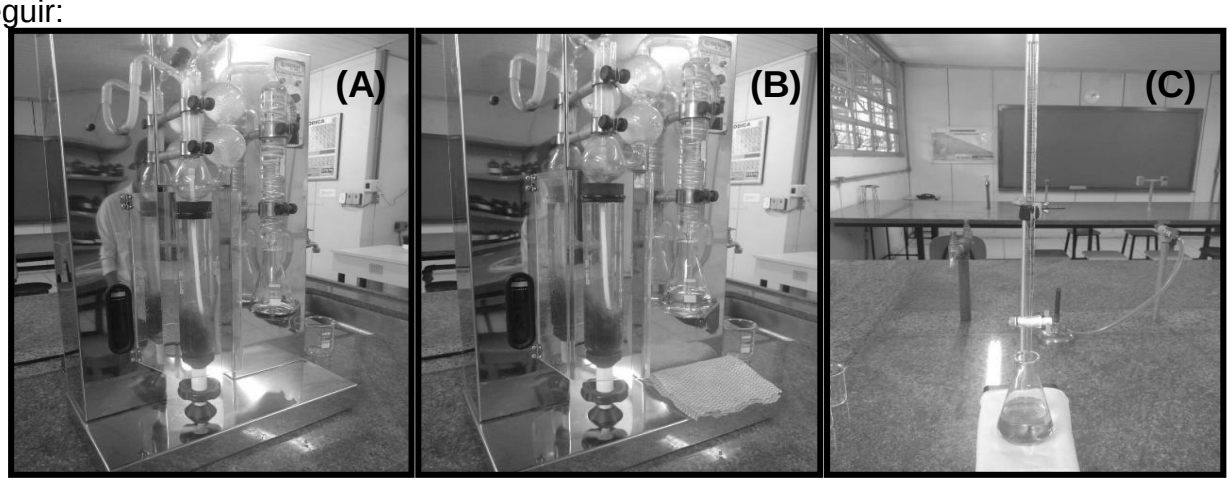


Figura 20: Análises. **A)** Início da destilação. **B)** Ponto final da destilação. **C)** Titulação.

A tabela 1 é apresentado os resultados obtidos com as gramíneas coletadas na cidade de Ourinhos-SP, às adjacências do Rio Pardo e sem nenhum cuidado aparente.

Adjacências do rio Pardo - Ourinhos SP somente nos meses de Junho e Julho			
Determinações das amostras		**Amostra 1* Triplicatas**	**Amostra 2* Quadriplicatas**
mL(s) – titulação	peso amostra em gramas		
2,1	0,5949 g	**38,10 %**	
2,5	0,5017 g	**45,20 %**	
3,1	0,5001 g	**56,30 %**	
2,2	0,5949 g		**33,59 %**
2,2	0,5779 g		**34,58 %**
3,5	0,5170 g		**61,57 %**
2,4	0,5939 g		**41,45 %**
Amostra 1* e 2* foram coletadas em dias com temperaturas variadas entre (03-21ºC)			

Tabela 1: Amostra de gramínea sem nenhum cuidado e com folhas levemente queimadas de geada noturna ao lado das empresas SANGEX e TECNAL (2016).

Já a tabela 2 mostra o teor encontrado de proteína bruta (PB) em Platina-SP. Este foi realizado com o auxílio do laboratório AGROLAB Laboratório de Análises Agropecuária LTDA – ME do Município de Assis/SP.

IDENTIFICAÇÃO	**Produto Bruto**
BRACHIARIA	**79,3 g/kg**
(%) Amostra de PB	**7,93 %**

Tabela 2: Coleta realizada na cidade de Platina-SP.

A fazenda na tabela 2, apresentou uma capacidade hídrica melhor, mas ainda assim sem nenhuma adubação aparente. Sendo assim, foi possível comparar esses resultados com outros resultados cedidos pela AGROLAB quanto à porcentagem proteica e os fatores interferentes.

A seguir são apresentados os resultados comparativos proteicos cedidos:

IDENTIFICAÇÃO	Proteína Bruta
BRACHIARIA	**72,5 g/Kg**
(%) Amostra de PB	**7,25 %**

Tabela 3: Amostra de gramínea bovinos de piquete – Fazenda Nossa Senhora do Pilar - Sagres SP (2013).

Na tabela 4, evidencia-se as gramíneas do Mato Grosso - Fazenda, conforme a seguir:

Fazenda Santa Terezinha - Campo Grande MS			
Determinações		**Amostra 1**	**Amostra 2**
PB	**proteína bruta**	54,70 g/kg	61,40 g/kg
(%) proteína bruta		**5,47 %**	**6,14 %**

* Amostra de gramínea bovinos de corte cria: Amostra 1 (Faz. Santa Terezinha – MS)

** Amostra de gramínea bovinos de corte e engorda: Amostra 2 (Faz. Santa Terezinha – MS)

Tabela 4: Amostra de gramínea bovinos de corte cria em corte e engorda (2014).

A tabela 5, mostra como é importante a questão da planta, ou mais propriamente idade do capim, onde um capim mais recente apresenta melhores concentrações proteicas.

Determinações		Amostra 1*	Amostra 2**
PB	proteína bruta	107,50 g/kg	95,00 g/kg
(%) proteína bruta		10,75 %	9,50 %

Tabela 5: Comparação da amostra 1* (poda feita com 25 dias); amostra 2** (poda feita com 50 dias) – Fazenda Santa Terezinha - Campo Grande MS-pasto de engorda (novembro 2015).

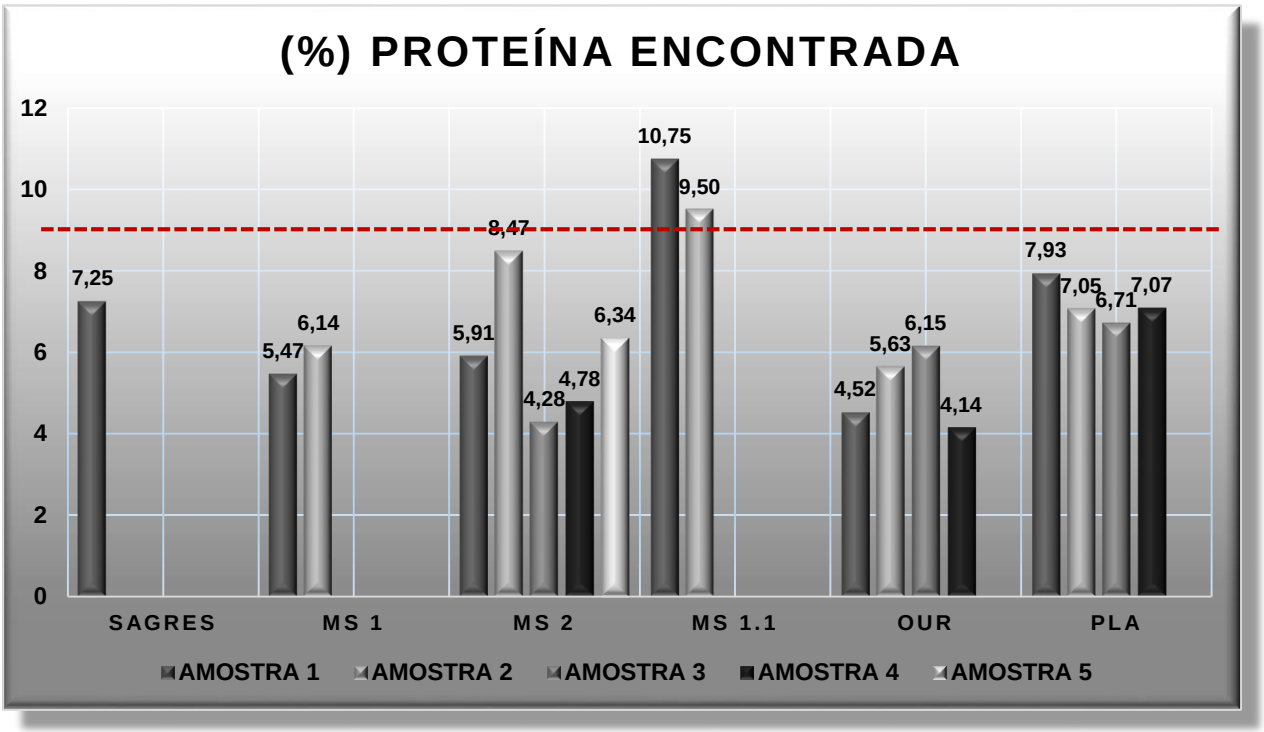
A tabela 6 apresenta um pasto de gramínea destinado a manejo rotacionado, onde há determinado pisoteio do gado, conforme se segue:

Fazenda Arauto Condomínio I - Campo Grande MS						
Determinações		Amostra 1*	Amostra 2*	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5
PB	proteína bruta	59,10 g/kg	84,70 g/kg	42,80 g/kg	47,80 g/kg	63,40 g/kg
(%) proteína bruta		5,91 %*	8,47 %*	4,28 %	4,78 %	6,34 %
*Amostra 1 e Amostra 2 gramínea de pasto rotacionado na Fazenda Arauto Condomínio I - Campo Grande MS						

Tabela 6: Amostra de gramínea bovinos de pasto de manejo médio (2015).

A seguir apresenta-se amplitude dos resultados apresentados e os comparativos cedidos pela AGROLAB, evidenciando o nível proteico relacionado pela literatura, conforme o gráfico a seguir:

Tabela 7: Gráfico e amplitude dos resultados apresentados e os comparativos cedidos pela AGROLAB.



SAGRES – FAZ. REGIÃO DE SAGRES (SP); MS 1 - FAZ. STA. TEREZINHA; MS 1.1 - FAZ. STA. TEREZ. (CAPIM MAIS RECENTE); MS 2 - FAZ. ARAUTO CONDOMÍNIO I; OUR – ADJ. RIO PARDO (SP); PLA – FAZ. REGIÃO DE PLATINA (SP).
(----) Valor pela Literatura em melhores condições.

Os resultados apresentados nesta comparação foram gentilmente cedidos pela AGROLAB – Laboratório de Análises Agropecuárias LTDA – ME, e com o auxílio do senhor Aleicho do laboratório CEPECI – FEMA, ainda com a aprovação dos proprietários envolvidos na qual por ética profissional serão mantidos em sigilo.

Segundo VAN SOEST (1994), o solo, o clima, o animal e as doenças influenciam no crescimento e na composição das plantas forrageiras e nas concentrações proteicas encontradas (SANTOS et. al., 2011).

Ainda conforme SANTOS et. al., (2011 apud HEATH et al., 1985 p. 534)

> Para a obtenção de forragens de qualidade superior é fundamental que sejam conhecidos os efeitos dos diferentes fatores de meio, a fim de que se possa adequar medidas de manejo com vista a atingir estes objetivos. Assim, aspectos como a individualidade das espécies, o estágio de desenvolvimento da planta, e a idade de corte, além da influência de fatores ambientais como clima e solo, são decisivos para a qualidade da forragem[...]

As amostras coletadas tanto na região de Platina quanto às adjacências do rio Pardo apresentaram valores excepcionalmente significativos mesmo diante de condições inóspitas, e consideradas degradantes à planta conforme as Tabelas 1 e 2. Na Tabela 1 pode se observar teores de 4,52%; 5,63%; 6,15%;4,14% (amostras coletadas em Ourinhos), ficando equiparadas inclusive com amostras do Mato Grosso, que possui condições fisiológicas bem melhores para o desenvolvimento da planta. Na Tabela 2 amostras da região de Platina, apresentaram 7,93% tecnicamente 8%, superior a maioria das amostras do Mato Grosso conforme pode ser observado na Tabela 4.

Em consonância a todos os valores encontrados e a produção de ração, com as devidas pesagens de nutrientes minerais necessários, foi realizado um teste bromatológico para garantir que o produto proposto tenha características de ração animal balanceada. E foram encontrados os seguintes resultados:

Análise bromatológica final (percentuais - %)	
ENN	26,84 %
NDT	59,70 %
FB	30,31 %
U	3,41 %
MS	96,59 %
MM	50,56 %
EE	15,20 %

Tabela 8: Resultados da análise bromatológica final. Sendo concluídas as pesagens foi realizada nova análise bromatológica a fim de quantificar a matéria mineral ou cinzas (MM), fibra bruta (FB), nitrogênio digestíveis totais (NDT), estrato etéreos – EE (lipídios e

gorduras), e ainda extratos não nitrogenados (ENN), umidade total (U) e matéria seca (MS).

Nota-se nos resultados da última análise como havia sido feita já uma pré secagem na forragem da *Brachiaria* a umidade foi extremamente baixa resultando, portanto, toda a análise em cima de matéria seca, trazendo uma fiel caracterização do produto final pronto, e previamente inserido a legislação vigente, conforme a figura 21 a seguir:

Figura 21: Produto final

Por fim, foi necessária a verificação de qual o órgão responsável pela classificação destes produtos, e identificou-se que os alimentos com destinação de utilização animal ruminante é de responsabilidade da Associação Americana Oficial de Controle de Alimentos (AAFCO) e o Conselho Nacional de Pesquisas dos EUA (NRC), adaptada por F.B. MORRISON (BARBOSA, 2004). Onde são separados em dois grandes grupos: produtos volumosos e produtos concentrados. Alimentos volumosos são aqueles alimentos de baixo teor energético, com altos teores em fibra ou em água. Possuem menos de 60% de NDT e ou mais de 18% de fibra bruta (FB) e podem ser divididos em secos e úmidos. Já os produtos concentrados são aqueles com alto teor de energia, mais de 60% de NDT, menos de 18% de FB. Portanto o proposto se enquadra em produtos volumosos.

12. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Deve-se observar que conforme na literatura, EMBRAPA – 13ª revista, para bezerros de desaleitamento o ideal em concentrado ou volumoso é de 16 a 18% de PB ou mais (proteína bruta) (CAMPOS, Oriel Farjado de; MIRANDA, João Eustáquio Cabral de, 2012). Levando-se em consideração que o produto final em questão aqui proposto, é considerado um produto volumoso de acordo com a legislação, e em relação aos demais encontrados no mercado, pode-se obter algumas considerações favoráveis.

Verificado o mercado atual de suplementos para gado de corte e de produção de leite, foram encontradas 02 amostras (marcas) com 20% de proteína bruta sendo comercializadas por valor médio de 100,00 reais por 20kg de produto, ainda foi encontrada 01 amostra (marca) em que apresenta produtos com teores de 15, 17 e 19% de proteína bruta sendo vendidos com o preço médio de 89,00 reais pelos iguais 20kg de produto. Esses valores apresentados são especificados nos rótulos das marcas encontradas, e obviamente que foram sublimados aqui seus nomes e razões sociais por direitos autorais. Atualmente todos os produtos deste nicho são feitos com farelos de soja, milho ou trigo, oriundos de atividades agrícolas para a base proteica inicial e adicionado os macros minerais.

Conforme as considerações citadas acima, o produto aqui proposto de saída já é vantajoso, visto que apresenta expressiva porcentagem de PB. Ainda é de se revelar que há necessidade de adição de farelos proteicos afim de complementar o percentual para a comercialização final atendendo, portanto, toda a legislação vigente.

Portanto o que este trabalho cumpriu é, não só um novo modo, como um conceito sustentável e ainda uma qualidade enzimática melhor ao rumem frente aos já comercializados. Trazendo uma economia salutar ao processo em que se tem mais de 67% do teor proteico necessário para a fabricação, oriundo de volumoso capim *Brachiaria* diminuindo o gasto de logística e de injeção de insumos representativos.

A *Brachiaria brizantha Stapf* coletada apresentou teor proteico condizente com a literatura, inclusive com resultados expressivos em diferentes partes do território nacional. Daí a importância de se promover desenvolvimento de pesquisas e produtos alternativos na produção de alimentos e ração animal. Apresentou ainda resultados expressivos de 8% de proteína bruta na região de Platina (SP), dadas condições climáticas apresentadas,

durante os meses de junho e julho do ano 2016, um dos invernos mais severos da história. Provando por derradeiro que é possível industrialmente, o desenvolvimento de produtos suplementares a partir desta planta.

REFERÊNCIAS

AGOSTINI, Caroline. **Método de Lowry: Determinação de proteína em amostra de leite.** 2015. 14p. Trabalho de Conclusão de Curso – Departamento de Ciências Básicas – USP (Universidade de São Paulo), São Paulo, São Paulo, 2015.

ALMEIDA, C. C.; CONTE-JÚNIOR, C. A.; SILVA, A. C. O.; ALVARES, T. S. **Proteína do soro do leite: composição e suas propriedades funcionais**. Enciclopédia Biosfera, v. 9, p. 1840—1854, 2013.

ALVIM, Maurílio José; BROTEL, Milton de Andrade; XAVIER, Deise Ferreira. As principais espécies de Brachiaria utilizadas no país. **Comunicado Técnico 22**. Juiz de Fora – MG. Disponível em: <http://www.cnpgl.embrapa.br/totem/conteudo/Forrageiras_e_pastagens/Comunicado_Tecnico/COT22_As_principais_especies_de_braquiarias_utilizadas_no_pais.pdf> acesso em: 14 Abr. 2015.

ALVES, Líria. **Fritz Haber: Síntese Da Amônia.** 2015. Disponível em: <http://www.brasilescola.com/quimica/fritz-haber-sintese-amonia.htm > acesso em: 05 Mai. 2015.

AMABIS, José Mariano. **Biologia**. Vol. 1. São Paulo – SP: Moderna, 2006.

ANVISA. **Alimentação Saudável: Fique Esperto!.** 2015. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/propaganda/alimento_saudavel_gprop_web.pdf > acesso em: 06 Mai. 2015.

ARMESTO, Felipe Fernandez. **Comida: uma história**. Tradução de Vera Joscelyn. Rio de Janeiro – RJ: Record, 2004.

As Espécies De Capim Brachiraria. Lista gerenciada pelo Dicas e Cursos CPT, São Paulo. Disponível em: < http://www.cpt.com.br/dicas-cursos-cpt/as-especies-de-capim-brachiaria> acesso em: 14 Abr. 2015.

BALL, D.M.; HOVELAND, C.S.; LACEFIELD, G.D. Southern Forages. Potash and Phosphate Institute: Norcross. 1991. p. 256.

BARBOSA, Fabiano Alvim. **Alimentos na nutrição de bovinos**. Produção animal da escola de veterinária/UFMG.2004. Disponível em:

<http://www.agronomia.com.br/conteudo/artigos/artigos_nutricao_bovinos.htm> acesso em: 21 Out. 2016.

BRASIL. Ministério da Educação – MEC. Secretaria de Educação Média e Tecnológica – Semtec. **Parâmetros Curriculares Nacionais para o Ensino Médio**. Brasília: MEC/Semtec, 1999.

BRIGHENTI, Alexandre Magno; OLIVEIRA, Murilio Fernandes. **Biologia de Plantas Daninhas.** EMBRAPA – Centro de Pesquisas de Gado de Leite - Juiz de Fora MG. 2011. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/45445/1/Biologia-plantas-daninhas.pdf > acesso em: 19 abr. 2015.

BIN, Márcia. **Determinação de Proteína Bruta pelo Método de Micro-Kjeldahl. 2011.** 6p. UNIGRAN – Centro Universitário da Grande Dourados – MG. Disponível em: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAAe1_0AJ/determinacao-proteina-bruta-pelo-metodo-micro-kjeldahl> acesso em: 04 Abr. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. Edição IV. Instituto Adolfo Lutz. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

CAMPOS, Ana Cristina. **FAO: 805 Milhões de pessoas passam fome no mundo.** EBC Agência Brasil – Brasília. 2014. Disponível em: <http://agenciabrasil.ebc.com.br/internacional/noticia/2014-09/fao-805-milhoes-de-pessoas-passam-fome-no-mundo> acesso em: 29 Abr. 2015.

CAREGATTI, Ana. **Conheça os 11 alimentos vegetais mais ricos em proteína**. 2014. Disponível em: <http://noticias.uol.com.br/saude/album/2014/08/28/conheca-os-11-alimentos-de-origem-vegetal-mais-ricos-em-proteinas.htm > acesso em: 06 Mai. 2015.

CARVALHO, P.C. de F. **A estrutura das pastagens e o comportamento ingestivo de ruminantes em pastejo**. In: SIMPÓSIO SOBRE AVALIAÇÃO DE PASTAGENS COM ANIMAIS. 1. Maringá. 1997.

CASCUDO, Luís da Câmara. **História da Alimentação no Brasil**, 3. ed. São Paulo: Global, 2004.

CECCHI, Heloisa Máscia. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos.** 2°ed.rev. Campinas – SP. Editora Unicamp, 2003.

CROCOMO, Otto J. **Biossíntese das proteínas - Fisiologia vegetal 1.** 2ª ed. São Paulo: EPU,1985.

CRUZ, Roque. **Experimentos de química em microescala – química orgânica**. São Paulo: Scipione, 1995.

DIAMOND, Jared. **Armas, Germes e Aço – Os destinos das sociedades humanas**. Tradução de Silvia de Souza Costa. Rio de Janeiro – São Paulo: Record, 2005.

DORNELES, Liane T.; CUNHA, Gladis F. **Biologia vegetal – manual de práticas escolares.** Caxias do Sul – RS: Educs, 2005.

FERRARIS, R.; MAHONY, M.J.; WOOD, T.T. Effect of temperature and solar radiation on the development of dry matter and attributes of elephant grass(Pennisetum purpureum Schum). Aust. J. Agr. Res., 37: 621-632. 1986.

FERRI, Mário Guimarães. **Botânica – morfologia externa das plantas (organografia).** 15ª ed. São Paulo: Nobel, 1983.

FERRI, Mário Guimarães. **Botânica – morfologia interna das plantas (anatomia).** 9ª ed. São Paulo: Nobel, 1983.

FERRI, Mário Guimarães. **Fisiologia vegetal 1.** 2ª ed. São Paulo: EPU,1985.

GALVANI, Fábio; GAERTNER, Eliney. Adequação da metodologia Kjeldahl para determinação de Nitrogênio Total e Proteína Bruta. **CIRCULAR TÉCNICA 63 EMBRAPA – ISSN 1517 – 1965 ANO 2006**. Corumbá – MS. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/download/cirtec/circtec63-1.pdf > acesso em: 04 Mai. 2015.

GONÇALVES, Fabiana Santos. **Aminoácido**. 2015. São Paulo – SP. Disponível em: < http://www.infoescola.com/bioquimica/aminoacido/> acesso em: 12 Nov. 2015.

GONZÀLES, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 1999. Disponível em:< http://www.ufrgs.br/favet/bioquimica > acesso em: 01 Mai. 2009.

HEATH, M. E.; BARNES, R. F.; METCALFE, D. S. Forrage - The science of grassland agriculture. Iowa, 1985, p. 643.

JOHNSON, Mary. **Quantificação de proteínas.** 2012. Tradução de Antonielle Vieira Monclado. Brasília – DF. Disponível em: <http://www.labome.com.br/method/Protein-Quantitation.html> acesso em: 16 Nov. 2015.

LARCHER, W. **Physiological plant ecology**. Spring-Verlag. Berlin. 1975, p.252.

LEHNINGER. **Princípios de Bioquímica**. David L. Nelson, Michael M. Cox. Sarvier. 5ª edição. São Paulo, 2010.

MARCONDES, Maria E. R.; ZAMBOM, Denise M.; SOUZA, Fabio L.; PEIXOTO, Hebe R. da Cruz; SANTOS, Isis V. de Souza; AKAHOSHI, Luciane H.; LAMAS, Maria Fernanda P.; ESPERIDÃO, Yvone M. **Currículo do Estado de São Paulo – Ciências da Natureza e suas Tecnologias**. São Paulo: MEC/Semtec, 2012.

MALAVOLTA, Eurípedes; VITTI, Godofredo Cesar; OLIVEIRA, Sebastião Alberto de. **Avaliação do estado nutricional das plantas.** 2ª ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997.

MARZZOCO, Anita; TORRES, Bayardo Baptista. BIOQUÍMICA BÁSICA. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

NETO, Agenor Costa Ribeiro; ARAÚJO, Vagner Aziz Garcia de; ROSTAGNO, Horácio Santiago; ALBINO, Luís Fernando Teixeira; CARVALHO, Thony de Assis**. Potássio na nutrição animal**. Artigo número 117. Revista Eletrônica Nutritime. v.7.nº 4. 2010.

NICASTRO, Humberto. **WGold: a mais nova fonte proteica "padrãoouro" da Integralmédica.** 2014. Disponível em: < http://www.integralmedica.com.br/posts/wgoldamaisnovafonteproteicapadraoourodaintegralmedica1> acesso em: 30 Jul. 2016.

OLIVEIRA JUNIOR, Rubem S.; CONSTANTIN, Jamil; INOUE, Miriam H. **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas.** Curitiba: Omnipax, 2011.

PRADO, Carlos Henrique B. de A.; CASALI, Carlos Aparecido. **Fisiologia Vegetal – práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição vegetal.** Barueri – SP: Manole, 2006.

QUEIROZ, Haroldo Pires de. **Qual a classificação botânica da Brachiaria MG5, com relação a ordem? Poales ou Cyperalis?** São Paulo – 2012. Disponível em:< http://cloud.cnpgc.embrapa.br/sac/2012/09/14/qual-a-classificacao-botanica-da-brachiaria-mg5-com-relacao-a-ordem-poales-ou-cyperalis/> acesso em: 10 Mar. 2016.

REIS, R. A.; RODRIGUES, L. R. A. **Valor nutritivo de plantas forrageiras**. Jaboticabal, 1993. p.26.

SÃO PAULO. Secretaria da Educação; Coordenadoria de Estudos e Normas Pedagógicas. **Proposta Curricular para o ensino da Química: 2º grau**, 2. ed. São Paulo: SEE/CENP, 2012.

SANTOS, Gilmar O.; FARIA, Rogério de; SOUZA, Anderson de; RODRIGUES, Gilberto A. **Relação folha-colmo de Brachiaria brizanta fertirrigada com efluente tratado**. 2014

SANTOS FILHO, Raul Dias dos. **Gordura trans: mal a ser evitado.** 2009. São Paulo – SP. Disponível em: < http://www.einstein.br/einstein-saude/nutricao/Paginas/gordura-trans-mal-a-ser-evitado.aspx> acesso em: 12 Nov. 2015.

SANTOS, Nailson Lima; AZENHA, Mariana Vieira; SOUZA, Fernando Henrique Meneguello de; REIS, Ricardo Andrade; RUGGIERI, Ana Cláudia. **Fatores Ambientais E De Manejo Na Qualidade De Pastos Tropicais**. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia, vol.7, N.13; 2011.

SEVILLA, Cristiane; CRUZ, Adriano Eduardo; MARTINS, Ana Leia Moreira; BALSALOBRE, Marco Antônio Alvares. **Formulação de misturas minerais para bovinos**. Disponível em:< http://grupoapb.com.br/pdf/Formulacao_de_misturas_minerais_para_bovinos.pdf> acesso em: 21 Out. 2016.

SILVA, André Luis Silva da. **Aminoácidos como formadores de peptídeos a proteínas**. Disponível em: < http://www.infoescola.com/bioquimica/aminoacidos-como-formadores-de-peptideos-a-proteinas/> cesso em: 21 Out. 2016.

SOARES, Cecílio Viega Filho. **Curso de Manejo de Pastagens**.1997. 44 p. Dissertação (Mestrado) – Departamento de apoio, produção e saúde animal –Campus de Araçatuba, São Paulo, 1997.

SOUZA, K.A.F.D. e NEVES, V.A. Experimentos de bioquímica. Disponível em: http://www.fcfar.unesp.br/alimentos/bioquimica/praticas_proteinas/reacoes_coradasdois3.htm. acesso em: Ago. 2011.

STANDAGE, Tom. **Uma História Comestível da Humanidade**. Tradução de Marcia X. de A. Borges. Rio de Janeiro: Jorge Zarar,2010.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. New York, 1994, p. 476.

VARLET-GRANCHER, C.; GOSSE, G.; CHARTIER, M. et al. Mise au point: rayonnement solaire absorbé ou intercepté par un couvert végétal. Agronomie, v.9. p.419-439, 1989.

ZAIA, Dimas. **Determinação de proteínas totais via espectrofotometria: Vantagens e Desvantagens dos métodos existentes.** 1998. Disponível em: <http://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.html?id=5203976bcf57d7510b874391&assetKey=AS%3A272130200014848%401441892303055> acesso em: 04 Mai. 2015.